



Přírodovědecká
fakulta
Faculty
of Science

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

POSUDEK OPONENTA NA BAKALÁŘSKOU PRÁCI

Autor práce: Michael Janda

Název práce: Optimalizace exprese a purifikace fúzních konstruktů ptačího reovirálního proteinu μ NS

Školitel práce: Mgr. Barbora Kaščíková, Ph.D.

Oponent práce: Mgr. Eva Ďurinová

Pracoviště oponenta: Parazitologický ústav BC AVČR, Ústav chemie PŘF JU

	Bodový rozsah hodnocení ¹	Body
(1) FORMÁLNÍ POŽADAVKY		
Celkový rozsah práce (pro bakalářské práce min. 18 stran, pro diplomové práce min. 25 stran), vyváženost rozsahů jednotlivých částí, logická struktura práce (u experimentálních prací doporučení pro teoretickou část do 1/3 celkového rozsahu)	0-3	3
Kvalita literární rešerše (počet použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru, aktuálnost zdrojů)	0-3	3
Správnost používání citačních odkazů (přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací, používání oficiálních zkratk časopisů)	0-3	3
Grafická úprava textu a obrázků	0-3	3
Úroveň souhrnu/annotace (i v angličtině)	0-3	2
Jazyková a stylistická úroveň, respektování platného názvosloví	0-3	3
Správnost a úplnost popisů u obrázků a tabulek (srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	0-3	1
Formální požadavky – body celkem		17
(2) VĚCNÉ POŽADAVKY		
Splnění cílů práce	0-3	3
Schopnost porozumět výsledkům, jejich interpretace a jasný popis, srozumitelnost diskuze a závěrů	0-3	2
Úroveň diskuse – interpretace výsledků, zařazení do kontextu v literatuře (absence diskuze výsledků s literaturou je nepřijatelná)	0-3	1
Logika postupu při vlastní výzkumné práci	0-3	3

¹ Bodový rozsah hodnocení: 0-nevyhovující, 1-vyhovující, 2-průměrné, 3-excelentní. U teoretických prací hodnotíte jenom (1) Formální požadavky, u experimentálních prací i (2) Věcné požadavky a u prací v cizím jazyce i (3) Jazykovou úroveň práce v cizím jazyce.

Úplnost popisu použitých metodik	0-3	3
Experimentální náročnost práce, samostatnost při práci	0-3	3
Úroveň zpracování experimentálních dat	0-3	3
Aktuálnost použitých metod	0-3	3
Přínos práce pro obor a publikovatelnost výsledků (po případném doplnění)	0-3	2
Věcné požadavky u experimentálních prací – body celkem		23
(3) PRÁCE V CIZÍM JAZYCE		
Jazyková a stylistická úroveň	0-3	
CELKEM BODŮ (MAX/ZÍSKANÝCH)	48	40

Komentář oponenta:

V úvodní části student podrobně rozebírá protein μ NS, jeho sekvenci, rozdíly mezi tímto proteinem ptačího a savčího reoviru a možné důsledky těchto odlišností v tvorbě viroplasem. Rešerše na toto téma je zdařilá. Chybí mi ovšem návaznost na kapitulu 3 (AlphaFold) a její odůvodnění v textu.

Úvodní část se tak zdá být ne zcela logicky navazující.

Cíle práce jsou sepsány velmi stručně a podobají se spíše anotaci. Cíl práce tak, jak je uveden (exprese a purifikace fúzních konstruktů ptačího reovirálního proteinu μ NS), byl ovšem splněn.

Metodická část je zpracována velmi precizně (některé popsané detaily postupu práce v laboratoři jsou až nadbytečné, což ale u bakalářské práce nehodnotím záporně).

K sekci s výsledky nemám žádné významné výhrady.

V diskuzi student krátce shrnuje výsledky jiných studií s podobným tématem, což je v pořádku, chybí mi ale návaznost a porovnání se studentovou prací. Student například zjistil při studiu jiných publikací, že úspěšná produkce μ NS byla provedena v hmyzí buněčné linii Sf9. Není ale uvedeno, proč tuto informaci student nevyužil nebo jestli ji hodlá využít v budoucnu apod. Dále například zmiňuje vhodnost vektoru pASK IBA pro krystalografii, která se ale jinde v práci nezmiňuje. Má student v plánu dělat krystalografické experimenty na purifikovaných proteinech? Pokud ano, bylo by vhodné to uvést.

Závěr práce jasně a stručně shrnuje výsledky a nemám k němu výhrady.

Popisky obrázků jsou často nedostačující. Čtenář by se měl orientovat v daném obrázku či grafu pouze na základě jeho popisu bez nutnosti číst text publikace/diplomové práce, a to v této práci v několika případech chybí. Uvádím příklad obrázku č. 4 v kapitole 2.3 – čtenář si musí sám domyslet, co znamenají odlišné barvy v obrázku, jakou metodou byl obrázek vytvořen, co má být daný protein. Navíc v obrázku chybí měřítko. Dalším příkladem je obrázek č. 2 v kapitole 2.1 – v obrázku se vyskytují popisky, které nejsou vysvětleny, taktéž chybí měřítko i uvedení rozlišení či použité metody k získání zobrazené struktury.

Po jazykové stránce je práce (až na pár drobností) velmi dobře napsaná.

Rozsahově práce odpovídá požadavkům.

Je zřejmé, že student odvedl velké množství práce v laboratoři a musel si osvojit mnohé metody, jako je PCR, elektroforéza, izolace plazmidů, transformace do buněk, exprese proteinů, chromatografie a další. Jistota v experimentální části se odráží v preciznosti vypracování metodické sekce. Nejsem si ale po přečtení kompletní práce jistá, jestli student dostatečně rozumí teoretickým aspektům tématu a tomu, jak mohou být výsledky jeho práce prakticky využity. O tom bude mít student šanci přesvědčit komisi u obhajoby a podle toho se také přikloním ke známce. Zatím

navrhuji 1 až 2.

Připomínky a dotazy, na které má student/-ka reagovat při obhajobě. Chyby, na které si má dávat student v budoucnu pozor:

Doplňující otázky pro studenta:

- 1) Proč byl purifikován reovirální protein μ NS s vybranými fluorescenčními značkami? K čemu pak potenciálně tyto purifikované konstrukty budou použity?
- 2) Můžete jednoduše komisi vysvětlit, co je to plazmid a princip transformace plazmidů do buněk?
- 3) Jaký je rozdíl mezi plazmidem pDEST17 a pASK IBA 37+?
- 4) V některých SDS-PAGE gelech s výsledky exprese plazmidů je u očekávané hodnoty 100 kDa vidět náznak signálu (např. obrázek 8 v sekci 6.1.1). V textu je ale uvedeno, že exprese nebyla úspěšná. Jak bylo určeno, že exprese nebyla úspěšná? Dělali jste hmotnostní spektrometrii u všech gelů?
- 5) V kapitole 6.2 (Příprava plazmidů fúzních konstruktů) by mě zajímalo, podle jakého kritéria vybíráte optimální podmínky. Na gelech vypadá většinou několik podmínek velmi podobně.

Závěr:

Práci

d o p o r u č u j i

k obhajobě a navrhuji známku 1-2

V dne

.....

podpis