

Posudek práce

předložené na
Fakultě chemicko-technologické
Univerzity Pardubice

- | | |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> posudek vedoucího | <input checked="" type="checkbox"/> posudek oponenta |
| <input type="checkbox"/> bakalářské práce | <input checked="" type="checkbox"/> diplomové práce |

Autor/ka: **Bc Simona Zatloukalová**

Název práce: **Příprava nestrukturovaných proteinů zapojených do tvorby matrice zubní skloviny**

Studijní program a obor: Bioanalytik

Rok odevzdání: 2016

Jméno a tituly oponenta: RNDr. Lucie Bednárová, CSc..

Pracoviště: Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i.

Flemingovo náměstí 542/2, 166 10 Praha 6

Kontaktní e-mail: bednarova@uochb.cas.cz

Odborná úroveň práce:

podprůměrná

Věcné chyby:

podstatné

Výsledky:

neprůkazné

Rozsah práce:

dostatečný

Grafická, jazyková a formální úroveň:

podprůměrná

Tiskové chyby:

závažné

Celková úroveň práce:

podprůměrná

Slovní vyjádření, komentáře a připomínky oponenta:

Diplomová práce Bc. Simony Zatloukalové *Příprava nestrukturovaných proteinů zapojených do tvorby matrice zubní skloviny* s celkovým počtem 77 stran a s 32 obrázky se zprvu jeví jako standardní diplomová práce. Nicméně po jejím důkladném pročtení musím konstatovat, že je velice nevyvážená.

Práce má rozsáhlou a velice zajímavou teoretickou část, ke které bych měla dotazy k některým formulačním nepřesnostem. Autorka uvádí na straně 11...*funkce proteinu se odvíjí od jeho přesně definované a neměnné trojrozměrné struktury*. Mohla by tuto větu, prosím, rozvést ve spojení s enzymatickou aktivitou proteinů, dále autorka píše na straně 14*Společně se tyto krystaly shlukují do prizmat zubní skloviny a do tzv. interprizmatické hmoty, obojí je viditelné na obrázku 3*....chtěla bych se zeptat z čeho se skládá interprizmatická hmota.

Na druhé straně část experimentálních výsledků je velice chaotická a výsledky nejsou systematicky prezentovány. Vzhledem k tomu, že autorka měla experimentovat tři proteiny a následně optimalizovat jejich přípravu, je překvapivé, že jednotlivé výsledky analýz, jak chromatogramy, tak i SDS-page gely po všech provedených operacích nejsou prezentovány v jednotlivých kapitolách tak, jak by čtenář předpokládal a to vždy v úplné trojici. Není tedy možné důsledně porovnat výsledky experimentovaných proteinů AMBN, AMBN Δ 5 a AMBN-c-term dle zadání diplomové práce jak s výsledky publikace WALD, et al. *Intrinsically Disordered Enamel Matrix Protein Ameloblastin Forms Ribbon-like Supramolecular Structures via an N-terminal Segment Encoded by Exon 5. The Journal of Biological Chemistry*. 2013, **288** (31), 22333-22345 jak v případě opakování procedury (viz zadání dipl práce), natož v případě optimalizace celé procedury. V obr. 12 v jeho popisu není deklarované, co prezentuje modrá a červená křivka, stejně jako popis neříká o jaký z protein se jedná. Osobně bych v této fázi očekávala tři chromatogramy pro proteiny AMBN, AMBN Δ 5 a AMBN-c-term, po kterých budou následovat tři obrázky SDS page gelů uvedených proteinů a ne pouze 2 obrázky gelů protein AMBN, AMBN Δ 5. Podobně se lze vyjádřit o kapitole 4.1.3., kde je pouze výsledek týkající se proteinu AMBN.

V kapitole 4.1.4 je naopak pouze výsledek týkající se proteinu AMBN Δ 5. V této souvislosti bych chtěla od autorky vysvětlit, co způsoblo takový barevný rozdíl právě v tomto obrázku č.17 mezi kontrolou M a sloupci jednotlivých elucí 1, resp.2, resp3 2/2. Proč není v této části prezentován také výsledek týkající se proteinu AMBN-wt, případně AMBN-c-term..

Autorka v experimentální části práce uvádí, že ve spolupráci s Mrg. Sylvou Janovskou, Ph.D. byly také proteiny analyzovány pomocí hmotnostní spektrometrie (dále MS). Proč v tomto případě nebylo provedeno porovnání s publikovanými daty?

Chaos v prezentaci a popisu obrázků popsanych na straně 57 v kap. 4.,2.2.1. (obr 17, 19, 20) uvádí čtenáře v dojem, že práce vznikala ve spěchu, přičemž k obr 18 mám stejné výhrady jako k obr 12. V této kapitole autorka prezentuje výsledky týkající se všech proteinů, na druhé straně bych se chtěla zeptat proč jednotlivé obrázky mají různá barevná provedení.

V kapitole 4.2.2.2 v obr 22 (SDS-PAGE AMBN wt po IMAC ve vsádkovém uspořádání) chybí sloupec odpovídající třetí eluci, data ve srovnání s obrázkem 23 (SDS-PAGE AMBN c-term po IMAC ve vsádkovém uspořádání), kdy oba proteiny jsou zpracovány stejným způsobem, nepůsobí věrohodně.

V kapitole 4.2.3 není jasné, zda autorka pracovala jen s proteinen AMBN-wt, nicméně na základě předchozí kapitoly lze předpokládat, že tomu tak nebylo. Opět bych ocenila aspoň pokus o provedení MS experimentu.

Výsledky kap.4.2.4. jsou velice nekompletní. Zde uvádí autorka na obr 26 porovnání výsledků SDS page a western blotu týkající se proteinu AMBN-c-term, přičemž o ostatních proteinech se v textu zmiňuje a tedy lze předpokládat, že měly i ostatní proteiny být předmětem studie a tedy podobné porovnání by mělo být provedeno. Ráda bych požádala autorku o detailnější vysvětlení

tohoto obrázku a porovnání zejména pak ve spojení s obr. 27, kde jsou uvedeny pouze SDS page gely – tedy aponě se tak domnívám neboť to není v popisu uvedeno. V této souvislosti bych také chtěla vidět originální výsledky a ne jen jejich výřezy - v případě AMBN Δ 5 vysvětlit co bylo v jamce 2-5, pro AMBN-c-term sloupce E1 resp. E2.

V kapitole 4.2.6. by bylo vhodné uvést, k čemu je vztahován výtěžek. Lze předpokládat, že je vztahován k výtěžku AMBN-wt presentovanému v publikaci WALD, et al. *Intrinsically Disordered Enamel Matrix Protein Ameloblastin Forms Ribbon-like Supramolecular Structures via an N-terminal Segment Encoded by Exon 5. The Journal of Biological Chemistry.* 2013, **288** (31). Nelze však stejným způsobem počítat i mutanty AMBN, neboť jejich výtěžky v původní práci nejsou uváděny a proteiny se jistě neexprimovaly ve stejném výtěžku jako AMBN-wt.

Ani v tomto případě jsem nenalezla zmínku o výsledcích z hmotnostní spektroskopie, která by byla vhodná pro případ exprese AMBN-wt, který jak autorka spekuluje, byl exprimován v kombinaci s AMBN-c-term. V práci mi chybí aspoň úvaha, jak by oba tyto proteiny by bylo možné odseparovat, ovšem v případě, že by se dle MS ukázalo, že se skutečně jedná o jejich kombinaci. Uvedená množství získaných proteinů se přímo k této úvaze nabízí. V této souvislosti bych se chtěla autorky zeptat, jakými metodami by bylo možné ověřit, zda se skutečně jedná o daný protein, jak by bylo možné ověřit jeho primární a případně sekundární strukturu, což předpokládám by mělo být logickým pokračováním tohoto projektu.

K celkové neuspořádanosti práce přispívá také stálé opakování složení použitých roztoků, které je ale velice přehledně presentované v kap.3.1. V případě kapitol 4.2., kde se autorka zabývá optimalizací by pro přehlednost bylo vhodnější uvést pouze skutečnou změnu podmínek než stálé opakování již napsaného.

Práce má několik jazykových překlepů, které mohou souviset se zjevným spěchem při jejím vzniku. Celkově jsem nabyla dojmu, že autorka příliš neprokázala schopnost pečlivé a cílevědomé práce v laboratoři stejně jako i vyhodnocení výsledků dle jejich prezentace v práci výsledků je na hraně uznání práce jako vzhovující parametrům diplomové práce..

Práci přes výhrady doporučuji uznat jako diplomovou.

Navrhuji hodnocení stupněm dobře.

Místo, datum a podpis oponenta: V Praze 29. května 2016

