

Posudek na bakalářskou / magisterskou práci

školitelský posudek
 oponentský posudek

bakalářská práce
 magisterská práce

Autor: Bc. Veronika Vlasáková

Název práce: Charakterizace O-glykosylace Gram-negativní bakterie *Francisella tularensis* pomocí *in vitro* oligosacharyltransferázové reakce

Školitel (Vedoucí diplomové práce): Mgr. Lucie Balonová, Ph.D.

Obsah/struktura/členění práce:

Diplomová práce Bc. Veroniky Vlasákové tematicky navazuje na studium glykosylace proteinů intracelulárního patogena *Francisella tularensis*, která byla u této bakterie objevena teprve nedávno, a představuje tak velmi atraktivní téma molekulární mikrobiologie. V práci se studentka zaměřila na provedení *in vitro* glykosylace modelového peptidu odvozeného od DsbA proteinu *F. tularensis*, který je glykosylován *in natura*. Cílem této práce bylo nalézt podmínky, za kterých k této enzymatické reakci dochází, za účelem získání výsledného produktu – glykopeptidu.

Diplomová práce je předkládána ve formě, která kombinuje úvodní část na podkladu literárního přehledu, metodickou část a část diskutovaných výsledků se závěrečným shrnutím získaných poznatků. V souladu s běžnou zvyklostí obsahuje formální organizace textu všechny potřebné pasáže. Celkový rozsah práce činí 100 stran a odpovídá standardní délce diplomových prací experimentálního charakteru.

Literární zdroje, citace a jejich použití:

Jako ne úplně šťastné se mi jeví uvádění citací souhrnně až na konci odstavců v teoretické části diplomové práce. Jednotlivé informace jsou tak hůře přiřaditelné jejich literárním zdrojům.

V některých případech nebylo dodrženo citování původních literárních pramenů. V teoretické části jsou často citovány české literární prameny, které však jednoznačně neobsahují originální výsledky, nýbrž přejaté informace z anglických odborných textů.

Uchazečka dále cituje webové stránky namísto původních vědeckých prací a uvedený text je spíše překladem přejatých informací. Původní literární zdroje jsou přítomny na daných webových odkazech dostupné.

Formální úroveň:

Vlastní text dle mého názoru nebyl podroben finální revizi. Překlep či gramaticky nesprávný výraz lze nalézt téměř na každé stránce. To se také projevilo několikerým opomenutím uvedení patřičného odkazu na použitou metodu, postup či tabulku. Konkrétně na stranách 29, 72 a 74 tak zůstala neopravena pracovní označení, a to „tabulka č.x“, „postup č. blabla“ či „metoda xy“.

Výsledky a jejich zhodnocení:

V předložené práci byla prokázána glykosylační aktivita dvou mutantních kmenů *F. tularensis*, která byla dále využita při následné *in-vitro* glykosylaci. Výstupem práce jsou podmínky, při níž dochází k modifikaci modelového fluorescenčního peptidu glykanem. Konkrétně se jedná o nalezení vhodného zdroje oligosacharyltransferázy, detergentu, pH reakčního prostředí a obsahu dvojmocných iontů, reakční teploty a inkubační doby. Práce rovněž zahrnuje nalezení vhodného postupu zpracování vzorků po proběhlé *in-vitro* glykosylaci, umožňující detekci výsledného produktu.

Dosažené výsledky a postupy použité pro jejich řešení jsou přehledně uvedeny ve výsledkové části a adekvátně konfrontovány s literaturou.

Splnění cílů práce:

Cíle práce, tak jak jsou definovány ve vlastním autorském textu, byly splněny.

Připomínky školitele:

1. Popisy obrázků, tabulek a grafů by měly patřičně vypovídat o jejich obsahu. V předložené práci mám na mysli zejména tabulky č. 4, 5 a 8 a obrázky č. 13, 14, 15.
2. Doporučení změn a korekce chyb stejného charakteru by měly být provedeny v celém textu a ne jen v místech, kde je na ně bezprostředně upozorněno.

Otázky do diskuze:

1. Použití membránových frakcí mutantních kmenů *F. tularensis* jako zdroj oligosacharyltransferázy pro *in vitro* glykosylaci vychází v této diplomové práci z předpokladu, že oligosacharyltransferáza je membránový protein. Průkaz membránové lokalizace tohoto enzymu však nebyl proveden. Dá se experimentálně ověřit, zda je tento enzym v připravených membránových frakcích mutantních kmenů s glykosylační aktivitou opravdu obsažen?
2. V závěru práce konstatujete, že by se tato studie dala použít pro studium glykosylační dráhy bakterie *F. tularensis*, a to tak, že by se využilo aktivity OST z mutantního kmene $\Delta pilA$ smíchaného s jednotlivými mutantními kmeny s inaktivovanými geny hypotetické glykosylační dráhy *F. tularensis*. V případě, že by k *in vitro* glykosylaci došlo, jaký výsledný produkt byste očekávala?

Celkové hodnocení:


Nezanedbatelné formální nedostatky dle mého názoru zbytečně snižují odbornou úroveň této diplomové práce a výsledky v ní dosažené. Na druhou stranu kladně hodnotím velké pracovní nasazení uchazečky, která musela zvládnout značnou škálu mikrobiologických a analytických metodických postupů, ať již jde o kultivaci bakterií, přípravu roztoků, spektrofotometrii, chromatografické a elektromigrační separační techniky či imunodetekce. Dále oceňuji její ochotu pracovat na zadaném, časově náročném tématu i mimo školní rok.

Na základě splněných stanovených cílů a dosažených výsledků konstatuji, že byly splněny všechny náležitosti vyžadované pro závěrečné práce studentů magisterského studia, a proto **doporučuji** přijetí práce k obhajobě.

Návrh hodnocení školitele

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

V ...Hradci Králové..... dne26.5.2015.....


.....Lucie Balonová.....
jméno a podpis školitele