

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče: **Bc. Marek Polák**

Název práce: **Utilization of protein radical footprinting for structural biology**

A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce (označte právě jednu z možností)

1. Rozsah DP a její členění	
X	A - přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí
	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
	N - nedostatečné

2. Odborná správnost	
X	A - výborná, bez závažnějších připomínek
	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
	C - uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami
	N - nevyhovující, s hrubými chybami

3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů	
X	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
	B - uspokojivé, s občasnými neobratnostmi zejm. v umístění odkazů, nebo s celkově nižším počtem citací
	C - s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, přednášky, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat
	N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)

4. Jazyk práce	
	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
X	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
	C - uspokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

5. Formální a grafická úroveň práce	
	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
X	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo četnějšími drobnými chybami
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

Bc. Marek Polák se v rámci své diplomové práce zabýval testováním různých hmotnostně-spektrometrických přístupů pro detekci proteinových zbytků modifikovaných metodou FPOP. Práci prováděl na již dříve popsané komplexu DNA-vázající domény proteinu FOXO4 s oligonukleotidem DAF16. Ambicí práce bylo zjistit, zda jsou zvolené přístupy vhodné pro analýzu komplexů proteinů s nukleovými kyselinami.

Předložená diplomová práce je psaná v anglickém jazyce, který je na standardní úrovni vědecké angličtiny nerodilého mluvčího a jako uživatelka podobné úrovně mohu spekulovat víceméně jen nad množstvím chybějících členů či nekonzistentnosti v používání čárek. Množství překlepů, stylistických a formálních prohrěšků je přiměřený rozsahu práce a zásadně neovlivňují čtivost textu, která je na velmi dobré úrovni. Práce je členěna standardním způsobem a splňuje všechny aspekty kvalitní diplomové práce. Literární přehled je velmi dobře zpracovaný a dostatečně obsáhlý, metodická část je sepsaná přehledně, výsledky jsou zpracovány důkladně a předneseny srozumitelně.

Více prostoru bych zde však ráda věnovala zpracování diskuse. Tato část práce má rozsah dvaceti stran, což je úctyhodné a vypovídá o tom, že se student zabýval interpretací svých dat velmi poctivě. Myšlenková úroveň diskuse je též na dobré úrovni, avšak oproti zbytku práce je patrný pokles stylistické úrovně této části, který zhoršuje též její čtivost. V této části bych navíc ocenila, když by byly nejprve porovnána data získaná oběma zkoumanými přístupy a až poté byla získaná data porovnána s daty z již publikovaných studií využívající jiné přístupy. Dále musím přiznat, že v části věnující se diskusi výsledků z top-down přístupu bylo použito jiného číslování zbytků v proteinové sekvenci a získaných fragmentů velmi matoucí. Možným řešením by bylo zahrnutí označení diskutovaných fragmentů do obrázku 38. V závěru diskuse mi též chyběla pasáž, ve které by student s větším nadhledem shrnul výhody a nevýhody použitých proteomických technik nejen v porovnání mezi sebou, ale též v porovnání s již zavedenými strukturně-proteomickými technikami.

I přes zmíněné výtky považuji předloženou diplomovou práci za zdařilou a doporučuji ji k obhajobě.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

1. Jako zhášec oxidace jste při FPOP použil volný methionin v nadbytku. Neobáváte se, že by mohl přebytek volného methioninu ve vzorku interferovat při jeho odsolování na reverzní fázi před hmotnostně-spektrometrickou analýzou?
2. Proč jste si zvolili formu proteinu FOXO4 zrovna v rozsahu 82-207 AMK?
3. Z jakého důvodu jste přidával proteasu/směs proteas ve dvou dávkách?
4. Na obrázku 21 jsou pod zónou celodélkového proteinu FOXO4 vidět i další slabší zóny. V diskusi pak zmiňujete, že se jedná o formy zkrácené na C-konci sekvence proteinu, avšak v celé práci není zmíněno, jak jste k tomuto závěru došli. Dále též deklaruje, že Vaše data ukazují, že zkrácené produkty neinterferují s celodélkovou formou proteinu, avšak není zmíněno, jaká data to ukazují a jakým způsobem. Prosím o vysvětlení.
5. V diskusi zmiňujete (str. 87, ř. 7), že data z FPOP naznačují, že Y124, W126 a M127 se nezapojují do vazby DNA, ale při vazbě DNA na protein je snížena přístupnost rozpouštědla k těmto zbytkům. Jaká konkrétně data toto naznačují?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **NENÍ** podmínkou přijetí práce

C. Celkový návrh

Navrhovaná celková klasifikace: **výborně**

Datum vypracování posudku: 17.6. 2020

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): Ing. Petra Junková, Ph.D.