

Posudek oponenta na bakalářskou práci

Autor práce: Tereza Tichá

Název práce: Lokalizace S-nitrosoglutathionreduktasy

Oponent: Mgr. Marek Petřivalský, Dr.

Poř. číslo	Kritérium hodnocení	Body (0-5)
1	celkový rozsah bakalářské práce, vyváženost rozsahů jednotlivých částí a jejich strukturovanost	5
2	kvalita úvodní části práce (množství použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru)	5
3	výstižnost formulace základního problému a cílů podle zadání práce a poznatků z literární rešerše	5
4	logika postupu při vlastní rešeršní nebo experimentální práci	4
5	úplnost popisu používaných metodik a postupů	3
6	úroveň zpracování výsledků (vhodné používání grafů a tabulek atd.)	5
7	adekvátnost interpretace získaných výsledků	4
8	způsob zhodnocení významu práce a jejího začlenění do kontextu dosavadního výzkumu na pracovišti a ve světě	4
9	výstižnost souhrnů práce v českém a anglickém jazyce	5
10	grafická úprava textu a obrázků	5
11	jazyková a stylistická úroveň, respektování platného názvosloví	5
12	správnost a úplnost legend u obrázků a tabulek (srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	3
13	správnost používání citačních odkazů (přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací, používání oficiálních zkratk časopisů)	5
Celkem bodů		58

max
65

Konkrétní připomínky

Formální zpracování práce:

U porovnání sekvencí enzymů na str. 26 není jasné, zda se jedná o výsledky převzaté z literatury nebo výsledek autory – v tomto případě měl být příslušný postup popsán v metodách a získaná data uvedena v části Výsledky, nikoliv v teoretické části

Str. 43 V popisu sondy pro fluorescenční detekci správný český název „fenylrtut“

Na obr. 30 a dalších je v popisku y-ové osy použita nesprávná jednotka nkat/min – tato chyba by měla být ve všech grafech diplomové práce opravena.

Připomínky k obsahu práce:

Používání termínu „lokalizace proteinu“ v bakalářské práci se neshoduje s obvyklým významem používaným v biologických vědách a v předložené práci žádné experimenty sledující lokalizaci GSNOR v rostlinách *sensu stricto* nebyly provedeny. Např. nadpis kapitoly 7.4 „Lokalizace GSNOR v extraktech ...“ měl znít spíše „Detekce GSNOR v extraktech ...“ apod.

Str.10 Poslední sloupec v Tab. 1 měl být správně označen jako „Intracelulární cíle“ (nikoliv zdroje), stabilní sloučeniny jako anorganické nitráty nebo oxid dusný nepatří mezi RNS

Str. 22 V popisku obr. 4 uveden odkaz na zdroj Wikipedii, který je nefunkční a navíc matoucí – není jasné, jak souvisí s článkem Staab et al. (2009)

Str. 56 Správně má být uvedeno, že mez detekce s použitím sekundární protilátky značené peroxidasou a barvení chlornaftolem je 10x vyšší (nikoliv nižší), zřejmě nesprávně uvedený koncentrační rozsah proteinu $5 \cdot 10^{-1} - 1 \cdot 10^{-12}$ µg.

Neúplné popisy metod: V metodách na str. 49 není přesně popsáno, jakým způsobem bylo provedeno mechanické poškození listů? Navíc ve výsledcích na obr. 23-24 jsou uvedeny výsledky pro „mechanicky poškozené kořeny“ – nebo se jednalo ve skutečnosti o kořeny z rostlin, u kterých byl poškozen list?. Z popisu blotování na str. 52 není jasné, zda pro experimenty byla používána metoda „semi-dry blotingu“ nebo „tank blottingu“.

Otázky:

- 1) V teoretické části je zmíněna existence cGMP-závislé signální dráhy NO v rostlinách, přitom je na str. 13 uvedeno že „rostlinná guanylátcyklasa nebyla dosud klonována“. Byl tedy v rostlinách prokázán výskyt nějakého enzymu katalyzujícího vznik cGMP, případně jeho interakce s NO?
- 2) Je správný údaj, že struktura lidské ADH3 popsaná na str. 25 byla získána s rozlišením 16 Å? Je možno vyjasnit tvrzení, že „katalytický zinek je vázán na vodu nebo hydroxid“?
- 3) Byla opravdu pro enzym z *Arabidopsis* popsána hodnota K_m pro S-hydroxymethylglutathion 1,4 pM, jak je uvedeno na str. 32?
- 4) Na str. 55 je v komentáři k výsledkům na obr. 17 uvedeno, že „Na základě densitometrického vyhodnocení bylo stanoveno nejvhodnější ředění polyklonální primární protilátky 500x“. Zmíněné densitometrické vyhodnocení však není ve výsledcích práce uvedeno, a u tohoto pokusu jako u ostatních pokusů využívajících metodu blotování v kap. 7.4. není v popiscích výsledků uváděno ředění protilátky sekundární. Byly provedeny nějaké optimalizační pokusy z hlediska různých kombinací ředění primární a sekundárních protilátek, případně také různých typů membrán a blokačních činidel?
- 5) Komentář výsledků testování polyklonální protilátky zahrnuje tvrzení, že „u všech modelových rostlin s výjimkou *Solanum* spp. bylo pozorováno nespecifické navázání protilátky ...“. Je toto tvrzení možno podložit nějakou hypotézou, proč se nespecifita neprojevuje také u extraktů z rostlin rodu *Solanum* spp.? Byly tyto pokusy provedeny s použitím jiných ředění primární protilátky? Je možno pro navazující experimenty nějakým způsobem specifitu použitého preparátu polyklonální protilátky zvýšit?

Chyby, které je nutno opravit

Opravit v grafech obr. 30-36 jednotky enzymové aktivity v popiscích y-ové osy a do STAGu vložit opravenou práci

Závěr: práci doporučuji k obhajobě.

V Olomouci dne: 25. 5. 2011

Podpis