

## Posudek oponenta na diplomovou práci



oponentský posudek

Jméno posuzovatele: Jürgen Felsberg, CSc.

Datum: 07. 07. 2020

Autor: Bc. Petra Rašmanová

Název práce: Analýza izolátů streptomycet obsahujících gen pro cyklizující aminolevulinátsyntázu

**Cíle práce:** Provést analýzu vybraných nových potenciálních producentů:

- ověřit aktivitu *als* genu a celého souvisejícího biosyntetického genového shluku
- pokusit se identifikovat látky, které aktivitou genového shluku vznikají
- ověřit jejich biologickou aktivitu

**Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému?** ANO

Rozsah práce (počet stran): 141 očíslovaných stran

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO

Je uveden seznam zkratk? ANO

**Literární přehled:**

Odpovídá tématu? ANO

Je napsán srozumitelně? ANO

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO

**Materiál a metody:**

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito? V této kapitole jsou popsány metody, které se dají rozdělit do 3 skupin: **(i)** mikrobiologické metody (kultivace mikroorganismů rodů *Streptomyces*, *Escherichia* a *Bacillus*; biologické testy citlivosti na bioaktivní látky; kultivace na selektivních médiích) **(ii)** molekulárně-biologické metody (izolace chromozomální a plazmidové DNA; analýzy DNA pomocí restriktáz; ligace a klonování; transformace a elektroporace; PCR reakce atd.); **(iii)** biochemické metody (chromatografie na tenké vtstvě; kapalinová chromatografie se spektrofotometrickou detekcí v UV/VIS oblasti a tandemovou hmotnostní detekcí (LC-UV/VIS-MS/MS).

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

**Experimentální část:**

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO

<b>Diskuze:</b>	
Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků?	ANO
Jsou výsledky porovnávány s literaturou?	ANO
Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky?	ANO
<b>Závěry (Souhrn) :</b>	
Jsou výstižné?	ANO
<p><b>Formální úroveň práce</b> (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):          Obrazová dokumentace je bohatá a je opatřena velice detailními popisy. Některé elektroforézy by si zasloužily lepší provedení. Interpretace některých TLC obrázků vyžaduje velice školené „oko“. Použitý počítačový program pDRAW32 pro kreslení plazmidů a vektorů má grafiku s nízkou rozlišovací schopností. Text je dobře členěný a čtivý. Oceňuji, že nebyly použity zbytečné anglicismy.</p>	
<p><b>Splnění cílů práce a celkové hodnocení:</b>          Na základě fylogenetické analýzy <i>als</i> genů byly vybrány kmeny BCCO10 1636 a BCCO10 1552. Cílem práce bylo ověřit aktivitu <i>als</i> genu u těchto vybraných kmenů, pokusit se identifikovat látky, které aktivitou genového shluku vznikají a ověřit jejich biologickou aktivitu. V průběhu zpracovávání diplomové práce se ukázalo, že kmen BCCO10 1552 je neprodukční. Tento výsledek byl později potvrzen získanými nukleotidovými sekvencemi a svědčí o správnosti provedení experimentů a vyhodnocování výsledků. To vedlo k tomu, že objektivně nemohly být některé cíle splněny. Celkově lze konstatovat, že práce je koncipována velice logicky a jednotlivé etapy na sebe plynule navazují. Závěrem chci zdůraznit, že orientace v tak složité tématice jako je biosyntéza antibiotik a její regulace, vyžaduje důkladné teoretické znalosti a použití širokého výběru laboratorních metod.</p>	
<b>Otázky a připomínky oponenta:</b>	
<b>Otázky:</b>	
1. Jaký byl časový rozdíl mezi zadáním diplomové práce a obdržením nukleotidových sekvencí analyzovaných oblastí?	
2. Dalo by se pro vyhodnocení některých TLC obrázků použít počítačové programy pro analýzu obrazu?	
<b>Připomínky:</b>	
Tyto připomínky či upozornění nemají vliv na faktickou hodnotu práce. Jsou to jenom příklady „chyb z nepozornosti“.	
1. Str. 24: atomické polyketidy = aromatické polyketidy;	
2. Str. 32: chybí (zřejmé) „...uvedenými čtyřmi <b>způsoby</b> :“	

3. Str. 40: „... silným konstitutivním promotorem silným konstitutivním promotorem ...“;
4. Str. 40: **LB** není zkratka pro **Lennox Broth**, ani pro medium **Luria-Bertani**, ale bylo původně použito pro „**Lysogeny Broth**“ (Bertani G., 2004. *J. Bacteriology* **62**: 293-300);
5. „Seznam zkratek“ by mohl být rozšířený např. o pojmy jako:
  - **BCCO**, 142 × v textu, a že se jedná o „Sbírce kultur půdních aktinomycet České Budějovice“;
  - **BSA**, 9 × v textu (**bovine serum albumin**);
  - **DDT**, 2 × v textu na str. 45, ovšem jestli, tak ve formě **DTT**, jakož to „**dithiothreitol**“;

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

velmi dobře

Podpis oponenta:

