

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele: RNDr. Jan Nešvera, CSc.

Datum: 17. 5. 2021

Autor: Bc. Milada Kambová

Název práce: **SigN from *Bacillus subtilis*: Functional characterization**
SigN z *Bacillus subtilis*: Funkční charakterizace

Cíl práce: Charakterizace transkripce ze SigN-dependenčních promotorů

Dílčí cíle:

- Izolace proteinu SigN a RNA polymerasy z *Bacillus subtilis*
- Příprava konstruktů pro studium transkripce
- Experimentální testování vybraných potenciálních SigN-dependenčních promotorů
- Stanovení koncentrací iNTP regulujících aktivitu SigN-dependenčních promotorů
- Studium efektu topologie DNA na aktivitu SigN-dependenčních promotorů in vitro
- Studium efektu topologie DNA na aktivitu SigN-dependenčních promotorů in vivo

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran): 86 stran

Práce je psána v angličtině

Je uveden český abstrakt a klíčová slova? ANO

Je uveden seznam zkratk? ANO

Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO

Je napsán srozumitelně? ANO

Použila autorka 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

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

Autorka použila ve své diplomové práci řadu biochemických a molekulárně biologických metod (např. izolace a purifikace proteinů, metody PCR, klonování fragmentů DNA, transkripce in vitro). Pro dosažení požadovaných výsledků byla zvláště přínosná kombinace metod in vitro a in vivo.

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky?

ANO

Diskuze:

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

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ANO

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Práce je svým rozsahem (86 str., 27 obr., 13 tabulek), obsahem i formou srovnatelná s obvyklým standardem diplomových prací. Obrazová dokumentace je kvalitní a názorně ilustruje získané výsledky a přehledně doplňuje popis teoretických základů v Literárním přehledu. Anglický text je na dobré úrovni a je velmi srozumitelný. Výskyt překlepů je zanedbatelný.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**Plánované cíle práce byly splněny.**

Diplomová práce přináší zcela nové poznatky o funkci vysoce specifického sigma faktoru SigN, kódovaného genem na plasmidu přírodního kmene *Bacillus subtilis* 3610. Základní vlastnosti tohoto sigma faktoru, objeveného v roce 2016, byly popsány dosud pouze ve dvou publikacích. Bylo zjištěno, že sigma faktor SigN je zodpovědný za transkripci pouze omezeného počtu genů kódovaných plasmidem pBS32. Hlavním přínosem předložené diplomové práce je přímý experimentální důkaz rozeznávání promotorů vybraných plasmidových genů sigma faktorem SigN. Odlišnost sigma faktoru SigN od známých sigma faktorů RNA polymerasy byla pak potvrzena zjištěním, že, na rozdíl od známých sigma faktorů, SigN rozeznává s větší účinností promotory v relaxované formě.

Kvalita výsledků popsaných v této diplomové práci je potvrzena zařazením některých z nich do publikace pracovníků laboratoře doc. Krásného, která vyšla letos v časopise *Microorganisms* (IF: 4,2).

Kvalita předložené diplomové práce svědčí o předpokladech autorky pro vědeckou práci.

Připomínky a otázky oponenta:**A) Připomínky:**

- 1) Uvedení seznamu použitých plasmidů a jejich základních charakteristik v kapitole Materiál by přispělo k lepšímu pochopení funkce používaných konstruktů.
- 2) Zobrazení -35 a -10 sekvencí a příslušných spacerů testovaných promotorů by přispělo k lepšímu pochopení interpretace získaných výsledků.
- 3) V textu je uveden kmen LK 2504, který není zmíněn v seznamu použitých kmenů (Tabulka 1).

B) Otázka:

V Diskusi je uvedeno, že mezi sekvencemi -35 a-10 jsou u promotorů tří testovaných chromosomových genů (*PydjC*, *PyybN*, *PnosA*) spacery dlouhé 16 bp. Jak dlouhé jsou spacery u dalších dvou testovaných promotorů chromosomových genů (*PdpoL*, *PphyC*)? Pokud testované promotory chromosomových genů opravdu nejsou SigN-dependentní, byly zjištěny v jejich „upstream“ sekvencích potenciální promotory rozeznávané jinými sigma faktory?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta:

