

Posudek oponenta na diplomovou práci

x oponentský posudek	Jméno posuzovatele: RNDr. Jan Nešvera, CSc. Datum: 24. 5. 2023
Autor: Bc. Anna Mária Paliesková	
Název práce: Expressia, lokalizácia a interaktom proteínu RefZ v priebehu sporulácie u <i>Bacillus subtilis</i> Expression, localisation, and interactome of the RefZ protein during sporulation in <i>Bacillus subtilis</i>	
Cíl práce: Charakterizace exprese genu <i>refZ</i> a lokalizace proteinu RefZ v modelovém organismu <i>Bacillus subtilis</i> Dílčí cíle: a) Identifikace promotorů genu <i>refZ</i> b) Charakterizace regulace promotorů genu <i>refZ</i> c) Určení lokalizace proteinu RefZ v buňce v průběhu sporulace a určení promotorů zodpovědných za případné rozdílnou časoprostorovou expresi d) Určení interakčních partnerů proteinu RefZ	
Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO Rozsah práce (počet stran): 97 stran Práce je psána ve slovenštině Je uveden český abstrakt a klíčová slova? ANO Je uveden anglický 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 různých metod. Kromě obvyklých biochemických a molekulárně biologických metod (např. izolace DNA, metody PCR, klonování fragmentů DNA, izolace a purifikace proteinů, transkripce in vitro) byla použita též metoda strukturované iluminace mikroskopie a metoda imunoprecipitace. 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 (97 str., 35 obr., 21 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. Text je na dobré úrovni a je velmi srozumitelný. Poněkud neobvyklé je, že není označen Literární přehled jako samostatná sekce, ale jeho jednotlivé kapitoly mají číslování souřadící s číslováním dalších sekcí jako jsou Materiál a Metody, Výsledky a Diskuse. Positivem předložené práce je naopak přítomnost sekce Přílohy, obsahující 3 obrázky a 4 tabulky, které prezentují detailní výsledky bioinformatických a spektrometrických analýz prováděných ve spolupracujících laboratořích.

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

Diplomová práce přináší nové poznatky o regulaci exprese genu *refZ*, kódujícího u *Bacillus subtilis* důležitý protein účastnící se procesu sporulace a o lokalizaci tohoto proteinu v buňce v průběhu sporulace. Jedním z hlavních přínosů předložené diplomové práce je zjištění, že na expresi genu *refZ* se kromě sigma faktoru SigH podílejí též sigma faktory SigF a SigG, které zřejmě rozeznávají stejný promotor. Byl prokázán též pozitivní vliv transkripčního faktoru Spo0A na transkripci genu *refZ* z obou zjištěných promotorů. Tyto výsledky získané použitím metody transkripce in vitro byly potvrzeny i experimenty in vivo. Metodami imunoprecipitace a hmotnostní spektrometrie pak byly určeny proteiny interagující s proteinem RefZ. Lze předpokládat, že získané výsledky budou součástí kvalitní publikace v mezinárodním vědeckém časopise.

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

Otázky a připomínky oponenta:**A. Připomínky:**

- 1) Uvedení mapy plasmidu pSGrefZFLAG v kapitole Materiál a metody by přispělo k lepšímu pochopení jeho funkce. V Tabulce 1 je pak uveden jako plasmid pSG61154 (+) *refZ*-3xFLAG.
- 2) V legendě k Obr. 8 je uvedeno RMB místo RBM.
- 3) Na str. 55, 3. ř. je uvedeno „12 Spo0A vazbových miest“, zatímco na Obr. 16 a v Tab. S2 je uvedeno 11 vazebných míst.
- 4) Str. 67, 6. ř. a legenda k obr. 33 – Uvedení konkrétních antibiotik by přispělo k lepšímu pochopení popsanych výsledků.
- 5) Kapitola 9.6 – Podrobnější popis použitých postupů i výsledků uvedených v Obr. 33 a 34 by přispěl k jejich lepšímu pochopení.
- 6) Tab. S1 a Obr. S2 – Zobrazení -35 a -10 sekvencí a příslušných spacerů navržených promotorů by přispělo k lepšímu zdůvodnění použití těchto fragmentů.

B. Otázky:

- 1) Na str. 61, 6. a 7. ř. je uvedeno „konštrukt (LK3228) obsahoval .. niekoľko vazbových miest pre transkripčný faktor Spo0A“. Obsahuje všech 11 ?
- 2) Co konkrétně představují pásy na Obr. 34 ? Jaké je vysvětlení pro silný pás v negativní kontrole ?
- 3) Jaké konkrétní vzorky byly analyzované hmotnostní spektrometrií ?

Návrh hodnocení oponenta

X výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: