

## Posudek oponenta na diplomovou práci

<input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: Mgr. Libor Krásný, PhD
	Datum: 13. 9. 2010
Autor: Eliška Streitová	
Název práce: Studium vlivu genu <i>yxkO</i> <i>Bacillus subtilis</i> na motilitu během odpovědi na osmotický stres.	
<b>Cíle práce</b> 1/ Vytvořit konstrukt DNA pro inaktivaci genu <i>yxkO</i> v <i>Bacillus subtilis</i> . 2/ Vytvořit kmen <i>Bacillus subtilis</i> s inaktivovaným genem <i>yxkO</i> . 3/ Zjistit vliv inaktivace genu <i>yxkO</i> na motilitu <i>Bacillus subtilis</i> při osmotickém šoku. 4/ Zjistit vliv inaktivace genu <i>yxkO</i> na hladinu transkriptů kódovaných geny <i>yxkO</i> (sebe sama) a <i>hag</i> (kóduje flagelin-hlavní bílkovinu vlákna bičíku). 5/ Zjistit zda regulační bílkoviny DegU a/nebo CodY mají vliv na transkripci genů <i>yxkO</i> a <i>hag</i> .	
<b>Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému?</b> <u>ANO</u> <del>NE</del> Rozsah práce (počet stran): 130 Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, <u>ANO</u> <del>NE</del> Je uveden seznam zkratk? <u>ANO</u> <del>NE</del>	
<b>Literární přehled:</b> Odpovídá tématu? <u>ANO</u> <del>NE</del> Je napsán srozumitelně? <u>ANO</u> <del>NE</del> Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? <u>ANO</u> <del>NE</del> Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? <u>ANO</u> <del>NE</del>	
<b>Materiál a metody:</b> Odpovídají použité metody experimentální kapitole? <u>ANO</u> <del>NE</del> Kolik metod bylo použito? Cca 30  Jsou metody srozumitelně popsány? <u>ANO</u> <del>NE</del>	
<b>Experimentální část:</b> Je vysvětlen cíl experimentů? <u>ANO</u> <del>NE</del> Je dokumentace výsledků dostačující? <u>ANO</u> <del>NE</del> - v čem jsou nedostatky? Postačuje množství experimentů k získání odpovědi na zadané otázky? <u>ANO</u> <del>NE</del> – co chybí, v čem je nedostačující?	
<b>Diskuze:</b> Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? <u>ANO</u> <del>NE</del> Jsou výsledky porovnávány s literaturou? <u>ANO</u> <del>NE</del> ... v omezené míře. Důkladné rozebrání tematiky ve vztahu k prováděnému projektu je však v Úvodu. Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? <u>ANO</u> <del>NE</del>	

**Závěry (Souhrn) :**

Jsou výstižné? ANO ~~NE~~

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

99% práce jsou po formální stránce výtečné. Bohužel trochu dojem kazí některé detaily, které jsou většinou v úvodu práce. Jmenovitě:

- (i) Český název by se lépe četl s předložkou: „...studium vlivu genu *yxkO* z/v *Bacillus subtilis*...“
- (ii) V anglickém abstraktu je několik překlepů a drobných gramatických nepřesností.
- (iii) V seznamu zkratk je chybná definice Km. Podobně,  $V_{max}$  je maximální transportní rychlost a nikoli kapacita. Konečně, píše se Dalgarno, nikoli Delgarno.)
- (iv) U obr. 45 chybí v popisu věta zmiňující, co zachycují červené kružnice.

**Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

Cíle práce 1/-3/ se podařilo splnit. Cíle 4/ a 5/ se podařilo splnit pouze částečně z důvodů technických obtíží při získávání dat. Celkově práce představuje velmi solidní výsledek, do kterého bylo vloženo značné úsilí. Je zřejmé, že se pisatelka aktivně seznámila s celou škálou molekulárně-biologických metod a přístupů. Většinu vytčených cílů se podařilo splnit a v případech, kdy narážela na technické obtíže, vyzkoušela několik přístupů pro zodpovězení zadané otázky.

Diplomovou práci hodnotím kladně a přeji pisatelce mnoho úspěchů v dalším profesním životě.

**Otázky a připomínky oponenta:**

1. V komentáři k obr. 25 a 26 pro mutantní kmen MP2 se říká, že „V případě růstu na médiích s 0,05 mM koncentrací KCl je patrné výrazné snížení růstu.“ Z prezentovaných obrázků to není ve všech případech zcela patrné (zejm. obr. 26, kmen wt versus MP2). Byly prováděny i růsty v tekutém médiu a vynášení OD600 jako funkce času jako alternativa pro charakterizaci studovaných kmenů?
2. Pro RT-PCR používané pro detekci exprese je klíčové odstranit zbytkovou DNA ze vzorku. Byla použita DNAsa před reversní transkripcí, případně provedena kontrolní reakce PCR na vzorku, který reversní transkripcí neprošla?
3. Výsledky studia motility jsou velmi pěkné. Bylo by možné je zachytit graficky? Například definovat pohyblivost jako dráhu 10 vybraných buněk za čas a znázornit sloupcovým grafem?
4. Načrtněte další možné směry, kterými se projekt může dále ubírat – na jaké klíčové otázky byste ráda znala odpověď?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta: