

Posudek oponenta na diplomovou práci

x oponentský posudek	Jméno posuzovatele: Irena Lichá
	Datum: 14.9.2011
Autor: Eva Tesařová	
Název práce: Povrchový růst a diferenciacie streptomycet na inertních mikrokuličkách – morfologická a proteomová analýza	
Cíle práce Cíle práce jsou součástí úvodu. Hlavním cílem je srovnat kultivaci u třech kmenů streptomycet (<i>S. granaticolor</i> , <i>S. coelicolor</i> , <i>S. ambofaciens</i>) na skleněných a zirkoniových kuličkách. Provést morfologickou analýzu u všech kmenů a u kmene <i>S. granaticolor</i> zjistit vliv způsobu pěstování na produkci granaticinu. Pomocí srovnávací proteomiky identifikovat proteiny, které se mohou podílet na rozpoznání a přichycení vegetativních hyf na rozdílné povrchy. Zjistit vliv materiálu mikrokuliček použitých při rozbíjení buněk na proteinový profil.	
Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO <input checked="" type="checkbox"/> NE <input type="checkbox"/> Rozsah práce (počet stran): Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO <input checked="" type="checkbox"/> NE <input type="checkbox"/> Je uveden seznam zkratk? ANO <input checked="" type="checkbox"/> NE <input type="checkbox"/>	
Literární přehled: Odpovídá tématu? ANO <input checked="" type="checkbox"/> NE <input type="checkbox"/> Je napsán srozumitelně? ANO <input checked="" type="checkbox"/> NE, částečně – <input type="checkbox"/> V kapitole 2.1.2 produkce sekundárních metabolitů jsou informace velmi zhuštěné, je zde několik myšlenkových „skoků“ na hranici srozumitelnosti. (např. str 19). V kapitole 2,3 Proteomové studie u streptomycet bych očekávala menší podíl obecných vysvětlení významnosti proteomiky v současné vědě ke konkrétním informacím a specifikům proteomových studií u tohoto organismu. Literární úvod obsahuje zbytečně mnoho vsunutých odstavců o významnosti streptomycet jako producentů antibiotik, stačilo by jednou v úvodu. Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO <input checked="" type="checkbox"/> NE <input type="checkbox"/> Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO <input checked="" type="checkbox"/> NE <input type="checkbox"/> Práce obsahuje 60 odkazů, jsou ve správném a jednotném formátu, s výjimkou nejednotnosti uvedení české diakritiky a nejednotnosti uvedení časopisů zkratkami a celými názvy např. J. Bact. i Journal Of Bacteriology. Dále na str. 19 není uvedena citace ke vztahu systému phoR-P a regulace syntézy antibiotik	
Materiál a metody: Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO <input checked="" type="checkbox"/> NE <input type="checkbox"/> Kolik metod bylo použito? Autorka si osvojila řadu mikrobiologických kultivačních metod včetně unikátní metody dvoufázové kultivace na mikrokuličkách vyvinuté v laboratoři školitele. Dále mikroskopické metody, jak optické, tak SEM. V neposlední řadě zvládla techniku 2DE a s ní spojené techniky (příprava proteinových vzorků, stanovení proteinů, isoelektrická fokusace, SDS elektroforéza, kvalitativní a kvantitativní analýza elektroforetogramů softwarem PDQuest)	

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO NE
<p>Experimentální část:</p> <p>Je vysvětlen cíl experimentů? ANO NE cíle experimentů jsou obsaženy pouze v názvu jednotlivých kapitol.</p> <p>Je dokumentace výsledků dostačující? ANO NE - v čem jsou nedostatky? U některých mikroskopických obrázků chybí měřítko, u obrázků 2DE gelů chybí hmotnostní marker</p> <p>Postačuje množství experimentů k získání odpovědi na zadané otázky? ANO NE – co chybí, v čem je nedostačující?</p>
<p>Diskuze:</p> <p>Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO NE</p> <p>Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO NE</p> <p>Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO NE</p> <p>Autorka měla v diskuzi ztíženou úlohu v tom, že k řešené problematice je jednak velmi málo publikováno a dále, že do odevzdání diplomové práce nebylo dokončeno určení jí vytipovaných proteinů hmotnostní spektrofotometrií.</p>
<p>Závěry (Souhrn) :</p> <p>Jsou výstižné? ANO NE</p>
<p>Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):</p> <p>Formální úroveň práce je dobrá, jediné jazyková úroveň úvodu je nápadně horší, než zbytek textu. Obsahuje mnoho anglismů, hlavně ve stavbě vět, nejednotnost názvosloví (hyfální x hyphální), Našla jsem několik překlepů a chybějících čárek.</p>
<p>Splnění cílů práce a celkové hodnocení:</p> <p>Vytyčené cíle autorka splnila. Zdokumentovala růst všech kmenů na různých površích, a to jak optickými metodami, tak elektronovou mikroskopií. Stanovila vliv kultivace na produkci sekundárního metabolitu (granaticinu). Velmi kvalitně provedla srovnávací proteomickou analýzu. Od optimalizace přípravy vzorku, přes provedení 2DE až po kvalitativní i kvantitativní vyhodnocení gelů.</p> <p>Práce je hlavně po experimentální stránce velice obsažná, autorka zvládla několik technik, z nichž zvláště 2DE vyžaduje značné experimentální dovednosti a zkušenost. Dokumentace výsledků je na dobré úrovni, s malými formálními připomínkami. (chybějící marker, měřítko), Autorka získala velmi zajímavé výsledky morfologie růstu mycelia na kuličkách a unikátní výsledky z 2DE analýz, které po doplnění identifikace vytipovaných proteinů MS, budou podkladem pro kvalitní publikaci.</p> <p>Práce splňuje všechny požadavky diplomové práce a doporučuji ji k obhajobě.</p>
<p>Otázky a připomínky oponenta:</p> <p>Seznam zkratk: Názvy bakteriálních druhů se nepiší do zkratk, zvláště celá forma mi přijde bizarní např.: <i>B subtilis</i> – Bacillus subtilis, proč ve „vysvětlení“ celého názvu nepoužíváte kurzívu?</p> <p>Proč je kyselina trichloroctová s velkým písmenem?</p> <p>Literární úvod:</p> <p>Str. 16 – co myslíte „drsnými podmínkami“ pro které je stringentní odpověď hlavní adaptační mechanismus a jaký je vztah adaptace k limitaci dusíku a stringentní odpovědi, jak uvádíte na str 18</p>

Str. 19 – prosím o vysvětlení informace, že hlavní protein pro syntézu actinorodinu (actII-ORF1), je homologní s TetR, když v předcházející větě uvádíte v podstatě informaci, že tetR – tetA je represor efluxní pumpa typická pro antibiotikovou rezistenci.

Metody:

Str. 32 fosfátový pufr na této stránce by měl být označen jako Fosfátový pufr II. Je uveden již jeden fosfátový pufr odlišného složení na str. 32

Str. 40 – Kap. 3.2.3 Příprava glycerolové konzervy by měla být nazvána spíše Příprava sporových konzerv.

Zjišťovali jste titr spor v konzervách?

Str. 44 – vysvětlíte algoritmus počítání EI výkonu při isoelektrické fokusaci – viz tab. krok 5 a 6 a celkového výkonu.

Výsledky

Str. 49 – obr. 41: přijde mi nelogické značit výřez z obr A jako Bb a z obr. B jako Aa. Jaké bylo kritérium výběru pro detail obrázku.

Proč jste vyřadili *S. coelicolor* ze studií tvorby kolonií na různých površích?

Str. 54 obr. 4.5 Jak si vysvětlujete nerovnoměrné zbarvení mycelia granaticinem na povrchu kuliček.

str. 83 Zahrnula jste proteiny, které jste našla jako unikátní (př. chybějící) v experimentu zjištění vlivu materiálu kuliček na proteinový profil buněk ve vyhodnocení v experimentu C, růst na skleněných kuličkách versus zirkoniových?

Diskuse.

Jak mohou být výsledky z Vennových diagramů zatížené experimentálními chybami a chybami z předchozích analýz gelů?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

x výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: