

## Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele:  
RNDr. Jana Beranová, Ph.D.

Datum:  
25.8.2015

Autor:  
Bc. Ludmila Veselá

Název práce:  
*Vliv exprese genu lmr(C) na biosyntézu linkomycinu u Streptomyces lincolnensis: Rezistence nebo produkce?*

### Cíle práce

*Cílem této diplomové práce bylo objasnit vliv produktu genu lmr(C) na produkci antibiotika linkomycinu bakterií Streptomyces lincolnensis ATCC 25466 a na resistenci tohoto produkčního organismu vůči linkomycinu.*

### Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO ~~NE~~

Rozsah práce (počet stran): celkem 99 (Lit. přehled 24 s., Materiál a metody 31 s., Výsledky 19 s., Diskuse 5 s.)

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO ~~NE~~

Je uveden seznam zkratk? ANO ~~NE~~

### Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO

Je napsán srozumitelně? ANO velmi

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

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

*Citováno je 139 prací, z nichž téměř stovka je mladších roku 2000*

*Pozn.:*

*V citacích v textu by zkratka „et al.“ měla být uvedena kurzívou. U některých citací v textu přebývají pomlčky mezi zkratkami křestního jména. I v seznamu literatury by měly latinské názvy a názvy genů býti psány kurzívou.*

*(Za poněkud nešťastné považuji formátování položek konečného seznamu literatury - s pomlčkami mezi jmény autorů, bez (fontem) zvýrazněného titulu práce a názvu časopisu/knihy - které dosti znesnadňuje čtení.)*

### Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito?

*Kultivace mikroorganismů, izolace a mikroskopické pozorování spor, příprava a transformace kompetentních buněk, klasické metody práce s DNA (restrikční štěpení, PCR, klonování atp.), agarosová a polyakrylamidové elektroforéza, western blot, stanovení MIC antibiotik, testování biologické aktivity sekund. metabolitů, HPLC (neprováděla autorka)*

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

*Tato část práce je zpracována velmi precizně a přehledně. Velmi oceňuji vysvětlení principů konkrétních metod. Pouze v kapitole 3.2.6.4. jsem postrádala alespoň stučný popis principu detekce proteinů pomocí systému ChemiDoc™ MP(Bio Rad).*

*Autorka i poctivě uvádí, které experimenty neprováděla přímo sama.*

#### **Experimentální část:**

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO

Postačuje množství experimentů k získání odpovědi na zadané otázky? ANO

*(za daných možností; z technických důvodů nemohly být prozkoumány všechny potřebné mutanty, nicméně je to zdůvodněno a v experimentální práci se stále pokračuje)*

#### **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

*Diskuse je velmi dobrá, kriticky porovnává dosažené výsledky s dostupnou literaturou, autorka navrhuje i řadu vysvětlujících hypotéz i dalších experimentů pro osvětlení zatím nevyjasněných skutečností.*

#### **Závěry (Souhrn) :**

Jsou výstižné? ANO

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

*Formální úroveň práce je velmi dobrá. Kvalita obrazové dokumentace též, výjimkou je obrázek 20, jehož rozlišení neumožňuje rozluštění drobných popisků, a nepříliš dobře reprodukováný obrázek 30.*

*Práce je psána srozumitelně, čtivě, pěknou češtinou. Objevila jsem pár překlepů, pravopisných chyb, chyb v interpunkci či několik méně obratných sdělení (viz připomínky), které ale nijak zásadně nesnižují celkovou kvalitu práce. Některé z nich ovšem mohou způsobit mírné zmatení čtenáře.*

#### **Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

*Prvním z cílů diplomové práce byla příprava kompletní sady mutant - jednoduchých, dvojitých a trojitě - v genech *lmr(A)*, *lmr(B)* a *lmr(C)*. Tento cíl zcela splněn nebyl, dvojitou mutantu AB a mutantu trojitou se bohužel - přes evidentní velkou snahu - připravit nepodařilo. Nicméně autorka v práci uvádí a diskutuje důvody i jistá omezení, která tento fakt přináší, a zdárně se s nimi vyrovnává. Rozhodně to tedy nepovažuji za závadu práce, pouze za experimentální „smůlu“. Další cíle byly v rámci uvedených skutečností splněny.*

*Práci jednoznačně doporučuji k obhajobě.*

## Otázky a připomínky oponenta:

### Připomínky:

- *Příklady nevhodných formulací:*

„ARE proteiny jsou přítomny jak u patogenů, jako je např. *Staphylococcus aureus*, tak u producentů antibiotik, jakým je právě protein Lmr(C) u *Streptomyces lincolnensis*.“ (s. 8) (*protein Lmr(C) není producentem*)

„Bezespornou výhodou retapamulinu je jeho značná odolnost k získání zkřížených rezistencí s jinými druhy antibiotik.“ (s. 14) (*retapamulin nezískává resistenci, získává ji mikroorganismus*)

„... lze předpokládat, že delece genu *lmr(B)* ovlivnila expresi okolních biosyntetických genů (Tab. 22) a tím i k narušení biosyntézy linkomycinu.“ (s. 87) (*vybočení z vazby*)

- *Překlepy a chyby, které mají vliv na smysl sdělení (navrhovala bych dodat k práci errat):*

Pleuromytilin, s. 4 (pleuromutilin)

*C. diphtheria*, s. 15 (*diphtheriae*)

switch region, s. 27 (switch)

*Corynebacterium*, s. 30 (*Corynebacterium*)

*Staphylococcus sciuri*, s. 30, Tab. 6 (*S. sciuri* ?)

v legendě k obr. 13 je uvedeno „h“ místo (zřejmě)  $\phi$

- *Pravopisné chyby:*

Saprofit (saprofyt), disfunkce (dysfunkce), fúze (fúze), standart (standard), po 30ti hodinách, (po 30 hodinách; k číslicím se nepřidávají žádné koncovky), 16-členný (16členný; přídavné jméno z číslovky se tvoří bez pomlčky, bez mezery)

- *Zbytečné anglicismy či laboratorní slang:*

destain (s. 40) - lépe: odbarvovací roztok, falkonka (s. 47), nehistagovaný (s. 80), polynenasaturované (s.12) – lépe: vícenasycené

### Otázky:

Na s. 24 se uvádí „Při konstitutivní expresi Erm metylas dochází k rozšíření MLSB rezistence také na 16-členné makrolidy a ketolidy (Schmitz, F. J. et al., 2001).“

*Existuje nějaká hypotéza o tom, co je vlastní příčinou takového rozšíření spektra?*

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta: