

Posudek oponenta na diplomovou práci

x oponentský posudek	Jméno posuzovatele: RNDr. Irena Lichá, CSc.
	Datum: 1.6.2012
Autor: Bc. Hana Dostálová	
Název práce: Funkce alternativních sigma faktorů RNA polymerasy při stresové odpovědi u <i>Corynebacterium glutamicum</i>	
Cíle práce Cílem práce bylo prozkoumat funkci alternativních sigma faktorů <i>C. glutamicum</i> , konkrétně σ^H a σ^M , při transkripci genu <i>sigM</i> , který kóduje studovaný sigma faktor a operonu <i>dnaK-grpE-dnaJ-hspR</i> , jehož geny kódují proteiny účastnící se odpovědi buňky <i>C. glutamicum</i> na tepelný stres.	
Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO NE Rozsah práce (počet stran): 73 Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO NE Je uveden seznam zkratk? ANO NE	
Literární přehled: Odpovídá tématu? ANO NE Je napsán srozumitelně? ANO NE 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 Jsou dostatečné, ale v úvodních kapitolách Literárního úvodu citovala přehledné články, místo primární citace (Gosh et al., 2010, Pátek et al. 2011), Snustad a Simmons 2009 – odkazuje na český překlad učebnice.	
Materiál a metody: Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO NE Kolik metod bylo použito? Autorka použila jak základní mikrobiologické metody kultivace bakterií (2) základní metody manipulace s DNA (isolace, restrikce, klonování, transformace), elektroforetické metody analýzy DNA, amplifikace DNA, metody měření aktivity promotorů Jsou metody srozumitelně popsány? ANO NE	
Experimentální část: Je vysvětlen cíl experimentů? ANO NE Je dokumentace výsledků dostačující? ANO NE - v čem jsou nedostatky? Postačuje množství experimentů k získání odpovědi na zadané otázky? ANO NE – co chybí, v čem je nedostačující?	

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO NE

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO NE

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO NE

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ANO NE

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

Práce má dobrou grafickou úpravu, pouze obrázky DNA gelů nejsou zcela v publikační kvalitě (oříznutí, označení markerů) a obrázek schématu plazmidu na str. 29. Jazyková úroveň je dobrá, autorka se téměř vyhnula „laboratornímu slangu“,

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Cíle práce autorka bezpochyby splnila a navíc získala zajímavé výsledky, které jsou publikovatelné, (prokázala predikovanou sekvenci promotoru *sigM* navrženou na pracovišti školitele). Prokázala jednak schopnost experimentálně pracovat a výsledky hodnotit, tak je i sepsat do diplomové práce. Doporučuji předloženou diplomovou práci k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:

K práci mám tyto připomínky:

1. Citace Bednář – odkaz na str.11, kap. 2.1. chybí v seznamu literatury
2. Obr.1 - není volen úplně relevantně – proč RNAP s navázaným CAP proteinem?
3. str.25 – v seznamu kmenů není jasné, zda kmeny *C. glutamicum* RES167 Δ sigM a *C. glutamicum* Δ sigM, Δ sigH byly získány z jiné laboratoře nebo byly připraveny v laboratoři školitele. Poslední zmíněný kmen nemá bližší specifikaci?
4. Str.27 – je chybně v legendě obr. 5 uvedeno, že plazmid pKSAC45 je „promoter probe“
5. Str. 41 – při dvoustupňové PCR reakci jste přidávala primery hned na začátku reakce? Jaká byla nasedací teplota primerů?
6. Str. 47 – jaká je definice „čerstvé kultury“?
7. Str. 44 – jak byl stanoven extinkční koeficient ve vzorci na výpočet aktivity CAT, co znamená označení V_e ve stejném vzorci, není uveden ve vysvětlení
8. Str. 51 – neshoduje se popis konsensu sekvencí -10 a -35 pro sigH na str. 51 a str. 18.
9. Str. 53 – špatná kvalita obrázku – určení velikosti fragmentu na jednotky bp na základě tohoto obrázku mi připadá neadekvátní.

Otázky:

1. Jaká byla strategie záměny nukleotidů v -10 oblasti pDnaK. Podobnost s konsensem promotoru jiného sigma faktoru nebo zrušit konsensus promotoru?
2. Proč jste v interpretaci svých výsledků nevzala v úvahu výrazné zvýšení aktivity promotoru pSigM v mutantu s delecí v genu *sigM* oproti WT i mutantu s delecí v *sigH*. Tab 7, 8 str. 46, 47 a grafy na obr. 9, 10 a 11 str. 47, 48 a 50?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

x výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: