

## Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele:  
doc. RNDr. Blanka Janderová CSc.

Datum:  
5.9.2011

Autor: **Tomáš Bakal**

Název práce: **Cílené vyhledávání genů sekundárního metabolismu ve streptomycetách**

### Cíle práce

1/ Identifikovat bakterie ze sbírky půdních izolátů aktinomycet pomocí porovnávání sekvencí fragmentů genu kódujícího 16S RNA za použití metod izolace DNA, PCR, sekvenování a práce s databázemi.

2/ Navrhnout degenerované primery pro vyhledávání A-domén enzymů podílejících se na syntéze neribosomálních peptidů a nalézt optimální postup PCR .

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

Rozsah práce (počet stran): 101

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  
**ČÁSTEČNĚ**

Literární přehled je správně zaměřen, dostatečně zešíroka, ale to mu spíše uškodilo. V práci, kde hlavním experimentálním cílem bylo otestování metody pro vyhledávání konkrétních A domén enzymů, je 19 stránek věnováno např. metodám používaným v taxonomii aktinomycet, rodu Streptomyces, sekundárnímu metabolismu, antibiotikům – vše samozřejmě v tomto rozsahu spíše povrchně. Na dalších 12 stranách zabývajících se enzymy obsahujícími A domény a příklady genetických manipulací, pak informace o A doméně zaujmají pouze 11 řádků, 1 obrázek a 1 tabulku.

### Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO (s výjimkou metody pro transformaci buněk a izolaci kosmidu, jejichž použití jsem v experimentální části nezaregistrovala) NE

Kolik metod bylo použito? 6 (nebo možná 8) metod + práce s databázemi

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO NE

### Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO NE **částečně**

Je dokumentace výsledků dostačující? **Obrázková ANO** NE - v čem jsou nedostatky?

Dokumentace slovní ovšem jen částečně. Experimentální část byla pojata velmi stručně. Bez předchozího pročtení Literárního přehledu a Materiálu a metod není jasně srozumitelné,

proč a jak diplomant postupoval.

Příklad: Kapitola Výsledky začíná nadpisem Uspořádání sbírky..., dál se uvádí, že byly využity sekvence fragmentů získaných PCR a byly porovnány. Za podstatně informativnější bych považovala stručné popsání toho, že byla izolována DNA, zda se to u všech izolátů dařilo stejně úspěšně –podle číslování sbírky **není jasné, zda diplomant zkoušel izolaci i u dalších kmenů** (jedině detektivním porovnáváním rozsáhlých tabulek by se to snad dalo zjistit), dále, že byla provedena provedena PCR, zase úspěšnost, kde bylo provedeno sekvenování –tak aby byl jasněji zřejmý podíl diplomanta.

**Mohly také být vloženy i nějaké obrázky kolonií** studovaných aktinomycet, když, jak se autor zmiňuje v diskusi, byla kontrola vzhledu použita jako pomocné kritérium pro výběr kmenů pro další práci.

Postup při navrhování degenerovaných primerů autor zařadil do kapitoly Metody, vhodnější by bývalo vložit ho do části Výsledky, pokud diplomant primery sám navrhoval.

Zejména pak prosím, aby při obhajobě diplomant **podrobněji popsal strukturu A domén**, jak jsou obvykle dlouhé, kde je lokalizována oblast vážící ATP, podle níž byly připraveny tři primery, kde jsou lokalizovány aminokyseliny, které určují substrátovou specificitu.

Postačuje množství experimentů k získání odpovědi na zadané otázky?

ANO Otázky jako takové položeny nebyly, NE – co chybí, v čem je nedostačující?

#### **Diskuze:**

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

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO NE **minimálně**

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

Diplomant u daného tématu neměl příliš o čem diskutovat. Nicméně, možná mohl porovnat zjištěné zastoupení jednotlivých rodů ve sbírce s výsledky získanými jinými autory na jiných nalezištích.

#### **Závěry (Souhrn) :**

Jsou výstižné? ANO NE

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

Formální úroveň je dobrá, množství překlepů nepřevyšuje obvyklý standard.

Nicméně mám následující připomínky :

1/ Lokalizace obrázků v Literárním přehledu není ideální, jsou řazeny obvykle až několik stránek za příslušný text.

2/ Nevhodné používání termínu nonribosomální, když i autor zná termín neribosomální, viz. str.27.

3/ List svolující k zapůjčení práce je vřazen jako str. 99 v seznamu literatury

4/ Označení primerů pro 16S rDNA se liší na str. 53, 62 a 63.

5/ U Protokolů pro PCR není uveden počet cyklů.

6/ Deklarované barevné označení nukleotidů na str.68 chybí.

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

**Diplomant odvedl bezesporu veliké množství experimentální práce, nicméně šlo spíše o rutinní využívání metod izolace DNA a PCR. Oba cíle práce byly splněny, u druhého cíle chybí pouze ověření toho, že přepisovaný fragment je opravdu nějakým typem A domény.**

**Je zřejmé, že se diplomant seznámil se základní literaturou k tématu, že zvládl několik molekulárně genetických technik a naučil se pracovat s biologickými databázemi. Své výsledky uspokojivou formou sepsal a komentoval.**

**Doporučuji tedy jeho práci k přijetí.**

**Otázky a připomínky oponenta:**

- 1/ Kde se nachází sekvence Y(R/A)TGD (str. 68), podle níž se navrhovaly primery UNI2r ?
- 2/ Proč byly voleny pro vyhledávání A domén navrženy tak krátké primery, když to pak dělalo problémy při PCR?
- 3/ Proč chybí na str. 83 chybí obrázek úspěšné elektroforézy popisované v textu?
- 4/ Bylo ověřeno, že fragment odpovídající délky získaný při PCR opravdu odpovídá svou sekvencí nějaké předpokládané A doméně?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně    velmi dobře    dobře    nevyhověl(a)

Podpis oponenta: