

## Posudek oponenta na diplomovou práci

<input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: RNDr. Gabriela Seydlová, Ph.D.
	Datum: 4.6.2014
Autor: <b>Markéta Dvořáková</b>	
Název práce: Role metabolismu nukleotidů při vývoji kolonií <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
<b>Cíle práce</b> Cíli práce bylo připravit kmeny <i>S. cerevisiae</i> s Gfp fúzemi vybraných genů metabolismu nukleotidů pro zjištění lokalizace jejich produktů v buňce a dále sledování vlivu přítomnosti dusíkatých bází v médiu na vývoj obřích kolonií různých kmenů <i>S. cerevisiae</i> .	
<b>Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO</b> Rozsah práce (počet stran): 154 Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova? ANO Je uveden seznam zkratek? ANO Oceňuji, že práce navíc obsahuje i seznam genů uvedených v textu.	
<b>Literární přehled:</b> Odpovídá tématu? ANO Je napsán srozumitelně? Srozumitelnost textu snižuje jeho délka daná nejen množstvím informací, ale i velmi obširným způsobem formulace vět i stylem vyjadřování vůbec. Některé informace se i v textu opakují. V úvodní kapitole literárního přehledu bych uvítala přesnější definici některých pojmů (jako např. mnohobuněčného společenstva, mikrokolonie, makrokolonie, mikroorganismy – kvasinky, bakterie či obojí?). Kapitola 2.5. z části obsahuje učebnicová data o nukleotidových bázích s odvoláním na knihu Voet, D. a Voet, J.G, 2011, která (nejspíš nedopatřením) chybí v seznamu citované literatury. Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO	
<b>Materiál a metody:</b> Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO Kolik metod bylo použito? V práci byly použity především různé kultivační metody, mikroskopické techniky a dále klasické molekulárně biologické metody při přípravě kmenů s gfp fúzemi. Jsou metody srozumitelně popsány? ANO, i když na mnohých místech je text nesystematický a zmatečný (především kap. 3.2.8. Stanovení amoniaku produkovaného obřimi koloniemi). Text obsahuje množství nepřesností nebo i faktických chyb jako např. chybějící parametry centrifugace při použití mikrocentrifugy (typ rotoru u této centrifugy není uveden), chybně uvedené parametry sterilizace (120 min, 90°C), místo rovnice kalibrační přímky je používán termín „přepočtení faktor“ nebo je zde informace, že fotografie gelu byla vyhotovena pomocí monitoru a tiskárny. Oproti tomu je zde trochu nadbytečně popisována příprava některých roztoků (např. 20 mM roztok NaOH ze zásobního 2 M roztoku nebo 5% glukosa).	
<b>Experimentální část:</b> Je vysvětlen cíl experimentů? ANO Je dokumentace výsledků dostačující? ANO. Práce obsahuje velké množství fotografií, které jsou všechny ve velmi vysoké kvalitě a jsou řádně a přehledně popsány.	

Nedostatky se vyskytují jen u Obr. 30, kde chybí fotografie kolonií kmene BYURA uvedených v legendě, a u Obr. 41, kde jsou kolonie kmene *ade4Δ* kultivované v přítomnosti 20 mg/l adeninu popsané jako *ade4Δ* 0 mg/l.

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky?

ANO, jen bych považovala za vhodnější, aby pro sledování vlivu nukleotidových bází přidávaných do média na vývoj kolonií bylo zvoleno médium s definovaným složením, tj. neobsahující kvasničný autolyzát. Tuto skutečnost ale sama autorka komentuje v závěru diskuse.

#### **Diskuze:**

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO, pouze s výjimkou kapitoly 5.1., která je v tomto ohledu trochu méně zdařilá.

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO, autorka podává logické argumenty pro vysvětlení získaných dat a pro další experimenty navrhuje použít kmeny produkující proteiny značené Gfp, které sama připravila. Dále doporučuje jinou volbu média.

#### **Závěry (Souhrn) :**

Jsou výstižné? ANO, závěry stručně a výstižně shrnují zásadní výsledky práce.

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

Formální úroveň práce je dobrá. Vyskytuje se zde řada drobných stylistických chyb (chybějící čárky a tečky ve větách), anglikanismy (např. aminokyselinový a nukleotidový metabolismus, upregulovat), odkaz na neexistující kapitoly nebo Obr. „xx“. Formální úroveň snižuje také špatná tisková kvalita obrázků v literárním přehledu, která stojí v protikladu s velmi kvalitními obrázky v části Výsledků.

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

Předložená práce obsahuje velké množství výsledků, kterým autorka musela věnovat jistě nemalé pracovní nasazení nejen při práci v laboratoři, ale i při jejich zpracování. Jako čtenář bych ale upřednostnila přesnější a stručnější zpracování textové podoby práce.

#### **Otázky a připomínky oponenta:**

1. Signalizuje produkce amoniaku kolonií nedostatek živin (popř. vyčerpání které živiny)? Pokud ano, proč se alkalické a acidické fáze během růstu opakují v cyklech? Na čem je počet těchto fází závislý (např. na rychlosti růstu, složení média)?
2. Jak je přijímán amoniakový signál buňkami, jaká je následující signální dráha?
3. Proč byla lokalizace proteinů fúzovaných s Gfp sledovaná pro každý z proteinů po různě dlouhé kultivaci? Shoduje se to s očekávanou kinetikou exprese genů?
4. O čem svědčí přítomnost sektorů v koloniích?
5. Absolutní hodnoty koncentrace i celková kinetika produkce amoniaku kmenem BY4742 kultivovaným v přítomnosti adeninu se na Obr. 37 a Obr. 42 liší. Jak to lze vysvětlit?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta: