

## Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

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

Datum:  
12.9.2014

Autor:  
Bc. Tomáš Zelenka

Název práce:  
Identifikace a aktivace kryptického genového shluku pro biosyntézu látek manumycinového typu u *Saccharothrix espanaensis* DSM44229

### Cíle práce

Identifikace genového shluku pro biosyntézu manumycinů u *S. espanaensis*, jeho oživení v heterologním producentovi, chemická charakterizace výsledných sekundárních metabolitů, optimalizace jejich produkce.

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

Rozsah práce (počet stran): 99 (*Literární přehled 17 s., Materiál a metody 38 s., Výsledky 34 s., Diskuse 4 s., Seznam literatury 6 s.*)

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

Je uveden seznam zkratek? ANO ~~NE~~

### Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO ~~NE~~

Je napsán srozumitelně? ANO ~~NE~~ – 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~~

Literární přehled je velmi kvalitně zpracován a výborně uvádí i nezasvěceného čtenáře do dané problematiky. Je velmi čtivý a srozumitelný, což u takové tematiky velmi oceňuji. Citováno je zhruba 90 literárních pramenů, dostatečně aktuálních. Citace v textu i seznam literatury jsou v pořádku i po formální stránce.

### Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO ~~NE~~

Kolik metod bylo použito?

*ioinformatická práce, izolace chDNA, příprava kosmidové knihovny, klonování, transformace E. coli a protoplastů streptomycet, hybridizace, kultivace streptomycet, izolace manumycinů, UHLPC, NMR*

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO ~~NE~~

*Kapitola materiál a metody je velmi rozsáhlá. Použité metody jsou popsány velmi podrobně, někdy možná až zbytečně detailně (např. složení komerčních souprav). Oceňuji, že je poctivě uvedeno, které metody prováděl někdo jiný než sám autor.*

### Experimentální část:

<p>Je vysvětlen cíl experimentů? ANO <del>NE</del>  <i>Cíle jsou srozumitelně formulovány na začátku práce.</i></p> <p>Je dokumentace výsledků dostačující? ANO <del>NE</del> – v čem jsou nedostatky?          Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky?          ANO <del>NE</del> – co chybí, v čem je nedostačující?</p> <p><i>Vzhledem k charakteru práce nebylo položeno mnoho otázek, které by mohly být zodpovězeny, cíle byly spíše praktické. Provedené experimenty ovšem postačují zcela ke splnění těchto vytyčených cílů. Vzhledem k tomu, že autor prováděl celou řadu kultivačních experimentů ve snaze podpořit produkci manumycinů u <i>S. espanaensis</i> (testování řady médií), mohly být v práci zařazeny alespoň ilustrační růstové křivky či podobná data.</i></p>
<p><b>Diskuze:</b></p> <p>Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? viz dále          Jsou výsledky porovnávány s literaturou? viz dále          Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? viz dále</p>
<p><b>Závěry (Souhrn) :</b>          Jsou výstižné? ANO <del>NE</del></p>
<p><b>Formální úroveň práce</b> (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):  <i>Formální úroveň práce je vynikající. Obrazová a grafická dokumentace je velmi kvalitní a výborně doplňuje text. (Pouze u obr. 21 by bylo vhodné zvolit pro označení vybraných klonů jinou barvu než tm. zelenou, která je zejména v tištěné verzi špatně odlišitelná od černé).</i></p> <p><i>Stylistickou a jazykovou úroveň hodnotím velmi vysoko. Text je psán velmi přehledně, srozumitelně, informace jsou logicky řazeny. Odkazy na obrázky a tabulky jsou v textu vhodně umístěny. Práce je psána krásnou, téměř bezchybnou češtinou. Objevila jsem jen nepatrné množství chyb (pouze v interpunkci), překlep jsem zaznamenala jeden či dva. Autor se téměř dokázal vyvarovat laboratorní hantýrky i zbytečných anglicismů (vyskytují se pouze: „ependorfka“ a „próba“). Slovo „viz“ se píše bez tečky (nejedná se o zkratku).</i></p>
<p><b>Splnění cílů práce a celkové hodnocení:</b></p> <p><i>Cíle práce považuji za splněné. Práci doporučuji k obhajobě.</i></p>
<p><b>Otázky a připomínky oponenta:</b></p> <p>Připomínky:</p> <p><i>Kapitola diskuse je poměrně stručná. Z velké části spíše jen shrnuje dosažené výsledky, místy opakuje, co již v předchozí kapitole Výsledky bylo zmíněno. V této části práce bych uvítala více odkazů na literaturu (v celé diskusi se vyskytuje pouze 2x odkaz na jediný článek). Chápu, že částečně je charakter diskuse dán tím, že práce byla zaměřena spíše prakticky a hlavním dosaženým cílem byla konstrukce kmene s funkčním genovým shlukem, o které se nadá říci o mnoho více, než zda se zdařila či nikoli. Nicméně mám za to, že prostor pro vyslovení či diskusi některých hypotéz by tu byl. Autor například mohl více rozvést, jaké důvody mohou způsobovat to, že „kryptický“ genový shluk je pro přenesení do jiného organismu aktivován, přestože jeho exprese není v heterologním hostiteli není nijak uměle podpořena.</i></p>

Otázky:

1. *Jak v práci uvádíte, analýzu nově získaných produktů pomocí UHPLC-UV(DAD)-ESI ToF MS a NMR jste neprováděl sám. V jaké míře jste se podílel na zpracování a zhodnocení získaných dat?*
2. *Proč jste pro přípravu MS média používal vodu z kohoutku (s. 29), zatímco pro ostatní média destilovanou vodu?*
3. *Na s. 20 uvádíte, že některé manumyciny jsou testovány pro možné použití v protizánětlivé léčbě. Citace je z roku 1996, tedy ne zcela aktuální – víte jaká je situace v současnosti? Jsou tedy již některé manumyciny v tomto směru (případně i jiném) klinicky využívány?*
4. *Na s. 22 zmiňujete možnost stimulace produkce manumycinových látek u streptomycet přidáním lanthanu či scandia do kultivačního media. Tušíte, na jakém principu by toto mohlo fungovat?*

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta: