

## Posudek oponenta na diplomovou práci

<input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: Olga Hrušková-Heidingsfeldová
	Datum: 8.9.2016
Autor: Bc. Kristýna Podholová	
Název práce: Role mitochondrií a retrográdní signalizace při vývoji kvasinkových kolonií	
<b>Cíle práce</b> <ol style="list-style-type: none"><li>1. V literárním úvodu seznámit čtenáře s retrográdní dráhou u <i>S. cerevisiae</i> a s homology retrográdní dráhy u savců.</li><li>2. Připravit mutantní kmeny <i>S. cerevisiae</i> a ověřit jejich správnost.</li><li>3. Popsat morfologii kolonií připravených kmenů odvozených od laboratorního kmene BY4742.</li><li>4. Popsat RTG dráhu v jednotlivých subpopulacích kvasinkové kolonie.</li><li>5. Zjistit, zda je exprese genu <i>CIT2</i> plně závislá na RTG dráze.</li></ol>	
<b>Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému?</b> ANO <del>NE</del> Rozsah práce (počet stran): 127 Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO <del>NE</del> Je uveden seznam zkratk? ANO <del>NE</del>	
<b>Literární přehled:</b> Odpovídá tématu? ANO <del>NE</del> Je napsán srozumitelně? ANO <del>NE</del> Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO <del>NE</del> Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO <del>NE</del>	
<b>Materiál a metody:</b> Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO <del>NE</del> Kolik metod bylo použito? Asi 15 Jsou metody srozumitelně popsány? ANO <del>NE</del>	
<b>Experimentální část:</b> Je vysvětlen cíl experimentů? ANO <del>NE</del> Je dokumentace výsledků dostačující? ANO <del>NE</del> - v čem jsou nedostatky? Postačuje množství experimentů k získání odpovědi na zadané otázky? ANO <del>NE</del> – co chybí, v čem je nedostačující?	
<b>Diskuze:</b> Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? Je diskuzí Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO <del>NE</del> Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO <del>NE</del>	
<b>Závěry (Souhrn) :</b> Jsou výstižné? ANO <del>NE</del>	

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

Práce je po formální stránce přijatelná, neshledala jsem žádný zásadní problém. Pro čtenáře by však bylo příjemnější, kdyby se autorka vyhnula laboratorní hantýrce a věnovala větší pozornost pravopisu, použití správných tvarů slov, případně rozdělování slov.

**Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

Diplomová práce Bc. Kristýny Podholové obsahuje úctyhodné množství výsledků. Slečna Podholová připravila přes třicet mutantních kmenů *S. cerevisiae*, v nichž vybrané geny buď deletovala nebo spojila s genem pro zelený fluorescenční protein. Následnou analýzou takto modifikovaných kmenů přispěla k pochopení funkce retrográdní dráhy v kvasinkách ve vztahu ke struktuře kolonií. Autorka zjistila, že exprese genu *CIT2* je závislá na funkci retrográdní dráhy (jen zapomněla splnění tohoto cíle explicitně uvést v Souhrnu). Výsledky této práce byly dokonce již publikovány v článku, jehož je Bc. Kristýna Podholová první autorkou. Výsledky, kterých Bc. Podholová dosáhla, hodnotím jako velmi cenné, ačkoli předkládaná diplomová práce mohla být zpracována pečlivěji.

**Otázky a připomínky oponenta:**

1. Na obrázku 6 (str. 14) nerozumím, co je přední a zadní červená a žlutá.
2. V kapitole 3.2.4 je několik nevysvětlených zkratk.
3. Na str. 26 autorka uvádí, že pro práci bylo vybráno sedm genů, ale dál píše o osmi.
4. Soudím, že pro odhad velikosti fragmentů DNA používáme standardy (nikoli standarty; str. 35)
5. Na str. 37 autorka uvádí, že používala suspenzi buněk o koncentraci 12 mg/ml. Jakým způsobem byla tato suspenze připravena?
6. Bylo by lépe držet se termínu „skladovací médium“ (str.24), spíše než „storovací médium“ (str. 48).
7. Autorka velmi pečlivě analyzovala od každého mutantního kmene více klonů. V některých případech vykazovaly jednotlivé klony značné fenotypové rozdíly v alkalizačním testu. Jaké je pro to vysvětlení?
8. Str. 69, §2: „Bylo předpokládáno, že protein Cit2p v delecích genů *RTG1*, *RTG2*, *RTG3* se nebude produkovat...“ - znamená to, že protein Cit2p se podle předpokladu neměl produkovat v kmenech, v nichž byly geny *RTG1*, *RTG2*, *RTG3* deletovány? Celý tento odstavec je poněkud hůře srozumitelný.
9. Str. 77 a dál: na některých obrázcích je v tištěné verzi velmi špatně vidět fluorescence GFP. (Toto není výtko, jen komentář. Při tištění DP se to často stává).
10. Zajímalo by mě, jaké je složení respiračního média, o němž se autorka zmiňuje na str. 79 a 80. V metodické části jsem ho nenašla.
11. Na str. 80 mě zaujala věta: „Na preparátech jsem si všímala morfologii buněk, výšku vrstev...“
12. Na str. 83 a 99 v panelech E je vidět vertikální signál napříč vrstvami buněk. Je pro něj nějaké vysvětlení?
13. Článek Podholová et al. 2016, který je elektronickou přílohou k této práci, obsahuje schéma, které shrnuje roli RTG dráhy při vývoji kvasinkových kolonií (obr.6). Velmi lituji, že v diplomové práci se podobné, příslušně modifikované schéma nevyskytuje také. Problematika retrográdní signalizace je poměrně komplexní a pro čtenáře není

jednoduché orientovat se ve výsledcích získaných s využitím velkého množství různých kmenů. Autorka navíc v diplomové práci své výsledky spíš jen popisuje. Diskuse je na hranici toho, aby bylo možné ji chápat jako skutečnou diskusi. Je škoda, že se autorka nepokusila své cenné výsledky víc komentovat a zpřístupnit čtenáři. O to důležitější je, že výsledky jsou již publikovány a určitě budou využity jako východisko pro další práci Laboratoře biologie kvasinkových kolonií.

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta: