

## Posudek na diplomovou práci

Diplomová práce Lucie Kraidlové na téma Respirační stav kolonií kvasinek rodu *Saccharomyces cerevisiae* s delecemi v genech CCR4, CAF40 a RIM 15 má rozsah 127 stran a klasické členění, včetně všech úvodních náležitostí. Je vhodně doplněna kvalitními obrázky a tabulkami. Kapitoly jsou členěny přehledným způsobem. Celkový rozsah práce je dostatečný, formální zpracování je kvalitní a po obsahové stránce také vyhovuje požadavkům na diplomovou práci kladeným. Podrobné posouzení bude probráno po jednotlivých hlavních kapitolách.

**Nadpis práce neodpovídá, striktně vzato, obsahu. Respirační stav je jen jedno ze zaměření práce. Proč autorka mluví o rodu *Saccharomyces cerevisiae*, když jde o druhové označení?**

Abstrakt celkem dobře shrnuje obsah práce, **snad jen klíčová slova nevyčerpávají vše**(např. všechny geny v oblasti zájmu, které jsou v nadpisu). **Anglická verze nadpisu se liší od české. Druhové označení *cerevisiae* má být i v Angličtině s malým písmenem. Zajímavé je, že autorka používá v anglickém shrnutí činný rod, který je vlastní spíše Češtině a v českém shrnutí používá rod trpný, který je běžnější v anglických odborných textech.**

Obsah v desetinném členění ukazuje, že autorka použila klasické rozdělení do kapitol podle zvyklostí katedry. **Pouze v jednom případě se dopustila chybného odstavcování. Velmi důležitá kapitola „Cíle diplomové práce“ je zařazena před „Výsledky“, ale není uvedena v obsahu, ani není číslována.**

**Seznam zkratk není úplný, ale to se stává běžně. (Např. str.19 PDS, STRE)**

**Úvod, myslím, splňuje úkol vysvětlit proč se autorka tématem zabývá a začlenit téma do širšího kontextu jen částečně. Je to spíše průvodce tím, co bylo děláno.**

Literární úvod jasně prokázal, že autorka se dobře teoreticky na svou práci připravila. **Celé rozsáhlé úseky bez citací (např. str.15-23 o mutantech) však ukazují, že jejími zdroji byly patrně hlavně práce shrnující spíše než původní. Literární úvod je rozsáhlý, někdy až příliš a poněkud nevyvážený. Autorka se příliš nevěnovala třídění údajů. Např. úseky týkající se jiných kvasinek a historie respirační deficiencie mohly být pominuty, ale byly pro mne poučné. Vhodné doplnění obrázky zlepšilo srozumitelnost, ale popis některých obrázků mohl být podrobnější (2.1.1. a 2.1.2). U obr.2.1.3. chybí odkaz a není jasné co autorka myslela poznámkou, že domény jsou přibližně v měřítku. Nejsm si jistý tím, zda střídání respirace a dýchání jako synonym, je vhodné. Správně autorka zařadila kapitolu o TTC, která má metodický význam.**

Kapitola Materiál a metody svědčí o tom, že autorka zvládla a použila velké množství metod, kromě chemických a mikrobiologických i genově inženýrské. **Snad měla jen systematictěji uvádět výrobce chemikálií. Co znamená zkratka CCC PCR a Taq purple DNA polymerázy (str.40). Str.48, proč uvedena množství použitých aminokyselin ve vzorcích formou rozmezí a ne přesně pro jednotlivé ak. Proč autorka většinou u metod neuvádí citaci? Byly vzorky obarvené EtBr po obarvení promývány? Termíny mutant a mutanta používány střídavě. Jak počítána koncentrace glukosy pomocí GLU-GOD 250?**

**Cíle práce bez komentáře působí roztržštěně a vystihují zaměření práce jen přibližně. Není zdůvodněno, proč byly právě tyto cíle zvoleny?**

V kapitole Výsledky autorka popisuje experimenty, týkající se morfologie kolonií mutanta rim15delta (ve srovnání s rodičovským kmenem, a to při různých podmínkách). Je třeba ocenit, že si autorka předem ověřila, že kmeny které obdržela odpovídají popisu, a to průkazem nepřítomnosti genu pomocí PCR. Dále sledovala vliv dalece RIM15 na alkalizaci media, vliv dalece genu RIM15, CAF40 nebo CCR4 na respirační metabolismus v koloniích a zarůstání buněk mutantních kmenů do agarové plotny, detekovala vznik respiračně

deficientních mutantů a charakterizovala jejich růst v tekutém mediu (u deletanta *caf40* a rodičovského kmene). Navíc prověřovala úbytek glukózy a přírůstek ethanolu na různých místech ploten. Experimenty jsou popsány srozumitelně a vyznačují se pečlivým provedením, i když některé z nich mají jen orientační charakter. **Slabým místem této kapitoly je, že na počátku oddílů se objevují některé údaje, které by se měly vyskytovat spíše v „Literárním úvodu“ a řada z nich nemá přímou návaznost na experiment (např. str.61). Postrádám však na mnoha místech zdůvodnění návaznosti pokusů. Postrádám také v některých případech plnohodnotné kontroly pro srovnání. Není např. dostatečně ošetřen vliv párovacího typu, resp diploidie v případě sledování alkalizace.** Vyhodnocení experimentů i rozsah této části práce jsou však uspokojivé a jasně prokazují, že autorka zvládla a aplikovala řadu postupů, z nichž některé (aplikace TTC) musela optimalizovat. **Některé experimenty realizované v rámci práce, bohužel vyzněly jako vycpávka, protože se jimi autorka v diskusi ani ve shrnutí již nezabývá.**

V kapitole Diskuze se autorka v podstatě zabývá dvěma okruhy otázek. Jaký vliv má dalece RIM15 na morfologii kolonií a na alkalizaci a jak probíhá fermentace resp respirace v koloniích několika delečních mutantů (*rim15*, *ccr4* a *caf40*)?. V prvním případě, při vybraných testovaných podmínkách, žádný vliv nebyl prokázán, i když byl očekáván. **Proč autorka nediskutovala toto překvapení a pouze je konstatovala? Proč autorka dodatečně nedoplnila kontroly při sledování alkalizace když zjistila, že párovací typ u mutantu hraje roli?** I tak je však odhalení vlivu dalece na alkalizaci velmi zajímavým poznatkem.

Druhý okruh je zpracován systematictěji, a to jak ve výsledkové tak v diskusní části. Vysvětlení průběhu TTC vybarvování kolonií vypovídajícím o respiraci zní v zásadě přesvědčivě a je podepřeno výsledky o glukóze a ethanolu v mediu a o rd mutantách vznikajících v koloniích. **Proč se obrázky provázející diskusi neobjevily již ve „Výsledcích“? Diskuse se mi zdá poněkud povrchní v tom smyslu, že autorka se nepokusila využít literární přípravu o sledovaných genech k hlubšímu osvětlení rozdílů mezi rodičovským kmenem a jednotlivými mutantními kmeny.**

Shrnutí je souborem hlavních pozorování bez hypotéz o příčině pozorovaných rozdílů mezi kmeny (pokud byly zaznamenány). Autorka tak pravděpodobně naznačuje, že jde o vstupní studii, která na formulaci hypotéz ještě zatím není zralá. Tato část práce ale jasně ukazuje, že autorka získala řadu zajímavých původních poznatků, které mohou být důležité při řešení problémů týkajících se studia růstu kolonií a dále, že autorka obohatila metodologii skupiny o možnost sledování respirace na úrovni kolonií.

Asi 70 citací v seznamu literatury doplňujících práci dokládá, že autorka se naučila pracovat s literaturou.

**Závěr. Protože autorka odevzdala práci dostatečného rozsahu, uspokojivě kvalitní po obsahové i formální stránce, prokázala, že umí pracovat s literaturou, zvládla mnoho metod a získala řadu zajímavých poznatků o růstu kolonií, doporučuji kladné přijetí její práce.**

19.9.2006

Vladimír Vondrejs

