



Oponentský posudek

Název práce: Studium interakce acyltransferasy RtxC s toxinem RtxA bakterie *Kingella kingae*

Autor(ka): Michaela Lichvárová

Stupeň kvalifikační práce: bakalářská diplomová

A) HODNOCENÍ OBSAHU PRÁCE

Hodnocení známkou na standardní stupnici 1 až 4 (detailněji viz příloha).

Rozsah teoretického úvodu, jeho relevance a aktuálnost
Preciznost popisu metodiky umožňující zopakování experimentů
Prezentace získaných dat a interpretace výsledků
Diskuze vyvozených závěrů v širším kontextu
Počet a kvalita literárních zdrojů, dodržení pravidel citační etiky

1
1
1
1
1

B) HODNOCENÍ FORMÁLNÍ ÚPRAVY PRÁCE

Hodnocení známkou na standardní stupnici 1 až 4 (detailněji viz příloha).

Úprava textu, dodržování typografických pravidel
Srozumitelnost a jednoznačnost textu, vědecký styl vyjadřování
Absence laboratorního žargonu, gramatických a pravopisných chyb
Názornost obrázků a tabulek, úplnost jejich popisků
Jednotný a standardní formát citací

1
1
1
1
1

C) STANOVISKO K PLAGIÁTORSTVÍ

Celkové shoda s jinými texty v databázi dle Turnitin %.

Považuji práci za **ORIGINÁLNÍ** / ~~PLAGIÁT~~.

Zdůvodnění v případě podezření na plagiátorství:

D) STANOVISKO K OPRAVĚ CHYB

Opravný lístek ~~JE~~ / **NENÍ** podmínkou obhájení práce.



E) SLOVNÍ KOMENTÁŘ

Diplomová práce Michaely Lichvárové je sepsána velice pečlivě, téměř bez překlepů či jiných jazykových neobratností. Všechny části diplomové práce jsou jak rozsahově, tak i obsahově vyvážené. Pozitivně hodnotím zejména čtivost textu a precizní zpracování teoretické části, která poskytuje dostatečný přehled o problematice a je vhodně propojena s experimentální částí. Ta je sepsána srozumitelně a dostatečně podrobně k reprodukování experimentů. Prezentace získaných dat je rovněž dobře zpracována, s přehledně uspořádanými výsledky a jejich interpretací. Splnění vytyčených cílů obnášelo jistě mnoho úsilí, zejména při přípravě velkého množství různých konstruktů.

Uvádím tedy jen pár drobných nedostatků, které jsem v práci zaznamenala:

- Ve dvou případech chybí uvedení pH použitých pufrů (pufr M63, pufr M2).
- U použitých enzymů by měla být uvedena jejich aktivita.
- U stanovení β -galaktosidasy není zcela jasné, co bylo použito jako slepý vzorek.
- Citace v textu jsou uvedeny pomocí číselných indexů, avšak v některých případech mezi čísly chybí čárka, což může být matoucí.

Tyto připomínky však nepovažuji za za nikterak závažné a nevyskytují se ve velké míře, takže neměly vliv na snížení hodnocení v žádném z uvedených bodů. Celkově hodnotím práci jako velmi kvalitní, splňující požadavky kladené na diplomovou práci a proto ji doporučuji k obhajobě.

G) DOTAZY K OBHAJOBĚ

1) Toxin bakterie *Kingella kingae* je produkován v neaktivní formě jako protoxin RtxA a je aktivován acylací dvou konzervovaných lysinových zbytků prostřednictvím specifické acyltransferasy. Je známo, jakou roli hrají tyto acylové zbytky při aktivaci? Musí být vždy pro aktivaci acylovány oba dva lysiny?

2) Na základě čeho bylo zvoleno, že bude acyltransferasa RtxC fúzována s T25 fragmentem adenylát cykly a interagující proteiny (ACP či RtxA) s T18 fragmentem? Mohlo by rozdílné uspořádání hrát roli ve zkoumaných interakcích i s ohledem na to, že vektor nesoucí sekvenci pro fragment T25 je nízkokopiový a plasmid nesoucí fragment T18 vysokokopiový? Je nějak omezena velikost proteinů, které mohou být k fragmentům adenylátcykly připojeny, aby stále docházelo k funkční komplementaci?

3) Jako templátová DNA pro amplifikaci genu *acp* byla použita chromozomální DNA bakterie *E. coli* XL-1 Blue. Jaká je homologie mezi tímto genem (proteinem) a genem (proteinem) bakterie *Kingella kingae*?

F) CELKOVÁ NAVRHOVANÁ KLASIFIKACE

- výborně velmi dobře dobře neprospěl(a)

Datum vypracování posudku: 23. května 2024

Jméno a příjmení oponenta/-ky, podpis: RNDr. Věra Černá, Ph.D