

Posudek oponenta na diplomovou práci

x <input type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: RNDr. Blanka Zikánová
	Datum: 12.9.2011
Autor: Bc. Barbora Sitařová	
Název práce: Tvorba biofilmu <i>Mycobacterium smegmatis</i> na povrch skleněných a zirkoniových mikrokuliček – proteomová studie.	
Cíle práce Cílem práce bylo vyvinout kultivační systém umožňující studium biofilmu u <i>M. smegmatis</i> , porovnat morfologii biofilmu vytvořeného na dvou typech mikrokuliček a na povrchu tekutého kultivačního média. Po zvládnutí kultivačních technik, dalším cílem bylo charakterizovat rozdíly v genové expresi na úrovni proteinů při planktonickém růstu a růstu ve formě biofilmu.	
Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO Rozsah práce (počet stran): 100 Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO Je uveden seznam zkratk? NE Práce je dobře srozumitelná i bez seznamu zkratk.	
Literární přehled: Odpovídá tématu? ANO Je napsán srozumitelně? ANO Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO Bylo použito 90 literárních zdrojů, přičemž více než třetina prací není starší 5 let.	
Materiál a metody: Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO Kolik metod bylo použito? Autorka zvládla řadu kultivačních a mikroskopických technik, 2D elektroforézu proteinů (příprava vzorků, isoelektrické fokusace, SDS elektroforézy, barvení a sušení vzorků). Výsledky 2D elektroforézy analyzovala pomocí PC programu PDQuest a zpracovala statisticky. Jsou metody srozumitelně popsány? ANO	
Experimentální část: Je vysvětlen cíl experimentů? ANO Je dokumentace výsledků dostačující? Ano, jen malá připomínka - hmotnostní marker u některých obrázků (2D elektroforéza) chybí a pokud je, není popsán. Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? Ano, s drobnými připomínkami uvedenými níže.	

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO
Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO
Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ANO

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

Graficky je práce zpracována velmi pěkně, text je srozumitelný a přehledný. Obrazová dokumentace má vynikající kvalitu. Drobným nedostatkem práce po formální stránce je nepatrně větší množství „překlepů“ (a určitá nejednotnost některých slov v textu) zejména v části Literární přehled.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Cíle práce byly splněny, autorka upravila dvoufázový systém používaný pro kultivaci streptomycet tak, aby umožňoval kultivaci *M.smegmatis*. Porovnála morfologii biofilmů (3 typy), rovněž sledovala dynamiku tvorby biofilmu na kuličkách optickou i elektronovou mikroskopií. Vyvinula metodiku přípravy proteinových vzorků z biofilmů pro analýzu na 2D elektroforéze, získané výsledky vyhodnotila kvalitativně i kvantitativně. Na základě srovnání proteomů vytypovala proteiny důležité pro tvorbu biofilmu i planktonický růst. Předložená práce splňuje i všechny formální požadavky, doporučuji ji k přijetí k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:

1/ Str.22, obr.2.3. a str.30, obr.2.7., v legendě chybí uvedení zdroje, odkud byly převzaty.

2/ Str.61, „pro kvalitativní analýzu bylo zvoleno kritérium minimálně 4násobné změny exprese u vybraných proteinů“. Nejde spíše o kvantitativní analýzu?

3/ Str.41, „do skleněných zkumavek bylo odměřeno 0ml kuliček“, je to správně?

4/ Str.77, tab.4.7., počet unikátních proteinů identifikovaných v baňce, experiment A je uvedeno 9, ale v textu např. na str.61 a z výsledků (master gel, obr.4.11) je unikátních proteinů 19.

5/ Str.54, v legendě obr.4.6. postrádám informaci o stáří biofilmu na kuličkách použitého pro SEM analýzu, tato informace není uvedena ani v textu.

6/ Chybí mi podrobnější charakteristika kmene *M.smegmatis* mc 155. Domnívám se, že by v práci měla být uvedena.

7/ Jak byly zpracovány vzorky biofilmu pro rastrovací elektronovou mikroskopii?

8/ Str.60, „po 48 hodinách se vytvoří silná vrstva složená z několika vrstev buněk, které jsou kratší a dělí se častěji(obr.4.9. E, F)“. S kratšími buňkami *M.smegmatis* v biofilmu 48 hod. starém souhlasím, jak jste si ověřila, že se buňky dělí častěji?

9/ Proč jste pro studium biofilmu (proteomické studie) zvolila skleněné kuličky?

10/ Nemohl přidavek Tweenu k submerzní kultuře ovlivnit výsledky proteinových profilů?

11/ Experiment C, píšete, že cílem studie bylo na úrovni proteinových profilů ukázat specifické změny v kultuře související se vzdušněním kultury a inkubací v optimální teplotě. Šlo by tyto dva parametry sledovat odděleně?

12/ Na základě čeho vyvozujete, že protein, č.spotu 803, je důležitý pro růst na kuličkách?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: