



Posudek na bakalářskou / magisterskou práci

školitelský posudek
 oponentský posudek

bakalářská práce
 magisterská práce

Autor: Bc. Pavla Stojková

Název práce: Studium potenciálních faktorů virulence bakterie *Francisella tularensis*

Oponent: RNDr. Alena Fučíková, Ph.D.

Struktura/členění práce:

Předkládaná diplomová práce má 100 stran textu, včetně příloh, který je členěn podle obvyklého schématu. Po krátkém úvodu a popsání cílů práce následuje poměrně podrobná teoretická část s přehledem studované problematiky. Nejprve je charakterizována studovaná bakterie *Francisella tularensis*, následuje část, přibližující její mechanismy virulence a poté i stručná charakterizace vztahů této bakterie s hostitelem, resp. s jeho imunitním systémem. Prostor je věnován též popisu klinických projevů nákazy tímto patogenem, který je dnes stále zařazen do skupiny agens, potenciálně zneužitelných ve formě biologických zbraní. Dále se autorka zmiňuje o možnostech detekce a identifikace tohoto patogenu a možnostech profylaxe a případné léčby vzniklého onemocnění. Závěrem autorka blíže charakterizuje vybrané kandidátní geny virulence, kterým se věnovala ve svých experimentech. Celý text je příjemně čitelný a podává více než dostačující přehled o studované problematice.

Experimentální část je velice hezky zpracována. Na začátku je uveden veškerý použitý biologický a chemický materiál, kity, použité oligonukleotidy i kultivační média a je uvedeno též složení použitých roztoků. Následuje popis jednotlivých metod, řazených chronologicky.

Další kapitola je též řazena chronologicky, dílčí výsledky jsou popsány zvlášť. Shrnutí a okomentování celé práce je poté provedeno v následující diskusi a závěru, na který navazuje seznam literatury a prezentovaných grafů, obrázků a tabulek.

Literární zdroje, citace a jejich použití:

Autorka pro svou práci využila velké množství literárních zdrojů, téměř bez výjimky zahraničních, což hodnotím velice kladně. Zvolený citační styl odpovídá normám, seznam literatury je zpracován pečlivě, všechna důležitá sdělení jsou v textu citována správně.

Výsledky a jejich zhodnocení:

Sledování vlivů inaktivace jednotlivých vybraných genů na virulenci bakterie *Francisella tularensis* zahrnuje velké množství dílčích kroků. Pro samotnou inaktivaci byla zvolena metoda delece pomocí dvojité homologní rekombinace, zahrnující tvorbu delečních konstruktů, jejich klonování do vhodného plazmidového vektoru, transformaci do vybraných buněk *E. coli* a následnou konjugaci s *F. tularensis*. Vytvoření deleční mutanti byly pak dále testovány *in vitro* a *in vivo*. Všechny kroky jsou popsány přehledně ve výsledkové kapitole, text je doplněn o tabulky a obrázky, které vhodně dokreslují prezentovaná data.

Formální úroveň:

Po formální stránce je práce až na drobnosti v pořádku. Zmínila bych občasný výskyt neslabičných předložek na konci řádku a neodsazení prvního odstavce v kapitolách.

V odborném textu bych nedoporučila používání obrátů jako zbrojení mikroorganismů a použití zastaralých výrazů (karbohydráty). Dále jsou v práci občas uvedeny nejasné pojmy jako laboratorní citlivost nebo patogeneze bakterie. V kapitole 3.1. Materiál chybí použité přístrojové vybavení a běžný laboratorní materiál (sklo, plast, pipety, apod.). V seznamu zkratk bych uvážila uvedení označení enzymů a označení bakteriálních kmenů. Domnívám se, že jednotky kb a kDa, není též nutné vysvětlovat jako zkratky. Obecně známé zkratky (UV, USA, DNA, apod.) také nemusí být zařazeny. Pro lepší přehlednost obsahu bych doporučila víceúrovňové odsazení. Vzhledem ke zvolenému citačnímu stylu by bylo vhodnější nečíslovat abecední seznam literatury, je to matoucí a ne vždy se podařilo číslo a zápis stejně odsadit.

Splnění cílů práce:

Na počátku uvedené cíle diplomové práce byly částečně splněny, důvody neúspěchu při inaktivaci genů FTS_0265 pro glutamát dehydrogenázu a FTS_0611 pro exopolyfosfatázu jsou jasně zdůvodněny během diskuse a shrnuty v závěru. Celkově dosažené výsledky hodnotím velice kladně, autorka prokázala schopnost samostatné vědecké práce, získané výsledky významně přispívají k objasnění mechanismů virulence bakterie *Francisella tularensis*.

Otázky a připomínky oponenta:

Jakým způsobem byly vytipovány kandidátní geny, resp. jakou proteomickou analýzou?

Dva ze studovaných genů kódují hypotetické proteiny s neznámou funkcí. Lze nějakým způsobem predikovat jejich funkci, např. na základě sekundární struktury nebo pomocí srovnání s podobnými proteiny u jiných organismů?

Celkové hodnocení:

Předkládaná diplomová práce vznikla ve spolupráci s vysoce odborným pracovištěm pod vedením zkušeného školitele. Zvolené téma je velice zajímavé a přehledně zpracované. Autorka se během experimentální práce výborně zorientovala ve studované problematice, což se odráží ve vysoké úrovni této diplomové práce. Její vypracování vyplývá z podmínek uvedených v § 46 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb., práce obsahuje všechny předepsané náležitosti, a proto ji doporučuji k obhajobě.

Návrh hodnocení oponenta

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

V Hradci Králové dne 9. 6. 2015

RNDr. Alena Fučíková, Ph.D.
jméno a podpis oponenta