



# BIOLOGICKÉ CENTRUM AV ČR, v.v.i.

Ústav molekulární biologie rostlin  
Branišovská 31, 370 05 České Budějovice  
IČ: 60077344 DIČ: CZ60077344

**Doc. RNDr. František Vácha, PhD**

Tel: +420-387 775 533 Fax: +420-385 310 356 E-mail: vacha@umbr.cas.cz

## Oponentský posudek bakalářské práce

Název práce: „Příprava izotopicky značených jednořetězcových DNA oligonukleotidů pro NMR spektroskopii“

Autor: Jaromír Cihlář

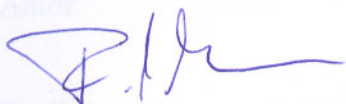
Předložená diplomová práce se zabývá problematikou nalezení a optimalizace vhodné metody pro přípravu dostatečného a ekonomicky únosného množství značené DNA pro NMR strukturní studie. Je napsána v českém jazyce, členěna na úvod, metody, materiál, výsledky, diskusi, závěr a použitou literaturu, má celkem 40 stran, 20 obrázků, z toho 10 ve výsledkové části. Část metody je rozdělena na literární přehled současných metod přípravy značené DNA a popisu vlastních metod použitých autorem v této práci.

Formální stránka je vyhovující, počet překlepů je minimální. V některých pasážích je popis velmi minimalizovaný až na úroveň, kdy se stává nepřesným (viz např. definice metody NMR a in-cell NMR na str. 8), někdy jsou použity nesprávné formulace. Doporučil bych používat spíš výraz elektronový oblak než mračno (viz str. 7) a chloramfenikol místo anglického chloramphenicol. Domnívám se, že ligační směs nebyla transformována tepelným šokem, transformovány byly buňky *E. coli* (viz str. 16, 1. věta). Latinské názvy např. *E. coli* by měly být psány kurzívou. V metodách mi u ligace chybí koncentrace vkládané a plasmidové DNA (str. 15). Poměr 1:1/10 bych raději vyjádřil 10:1 (str. 21), v popisu obrázku 4.1 chybí část věty - pravděpodobně „kolonií *E. coli*“ (str. 27). V názvu kapitoly bych nepoužíval zkratky (viz kapitola 4.2 str. 29). V diskusi jsou rozebrány výsledky ve vztahu k efektivitě zvolených

metod, chybí mi však názor na některé nejasnosti nebo nejednotnost ve výsledcích (viz část dotazy).

Rozsah práce a množství výsledků odpovídá úrovni bakalářské práce, autor dosáhl cílů, které si na začátku vytkl a lze předpokládat, že se tato práce stane základem pro tolik potřebnou ekonomickou přípravu izotopově značených oligonukleotidů DNA. Předložená práce odpovídá z hlediska odborného i formálního nárokům kladeným na bakalářskou práci a proto ji doporučuji k přijetí.

V Českých Budějovicích dne 20. ledna 2008



Doc. RNDr. František Vácha, Ph.D.

Dotazy k práci:

- 1) Proč nelze restriční reakce s enzymy Set1 a CviK1-1 udělat v jedné směsi postupně při 37° C a poté při 55° C.
- 2) Jak vysvětlit to, že při indukci buněk o koncentraci OD<sub>660</sub> 0,6 je koncentrace chloramfenikolu 220 µg/ml inhibující a u vyšších koncentrací buněk ne.
- 3) Co znamená, že je pás v linii A na obrázku 4.7 na str. 31 níže než u B a C? Bul i tento pás použit pro další experimenty?
- 4) Jaký je výtěžek postupů při izolaci DNA použitých v práci. Nevyplatilo by se zaměřit ve snaze o co nejvyšší výtěžek i tímto směrem?