

Příloha k protokolu o SZZ č. \_\_\_\_\_

Student/diplomant: Bc. Lucie Janáková

Vysoká škola: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta: Fakulta technologická

Aprobace: Chemie a technologie potravin

Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin

Ústav: Ústav biochemie a analýzy potravin

Recenzent : Mgr. Šárka Rösnerová

Datum odevzdání posudku : 31.5.2010

## POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

### Optimalizace multiplex PCR pro současnou detekci kolicinů a mikrocinů

(téma)

Předložená diplomová práce má rozsah 63 stran včetně 2 stran příloh, z čehož teoretická část má 17 stran, praktická část obsahuje 22 stran, z čehož výsledkům a diskuzi je věnovaných 11 stran.

Autorka měla v teoretické části své diplomové práce zpracovat téma bakteriocinů produkovaných kmeny *E.coli*, metod molekulární biologie využívaných k jejich stanovení a následně popsat metodu multiplex PCR. Teoretická část je zpracována přehledně, srozumitelně za použití velkého množství literárních zdrojů s významným podílem cizojazyčných odborných článků.

V praktické části se studentka věnovala

- ověření identifikace kmenů *E. coli*, izolovaných z potravin, metodou PCR s následnou detekcí PCR produktu agarózovou gelovou elektroforézou,
- vytvoření systému rychlé detekce všech popsaných kolicinů a mikrocinů u kolicinogenních kmenů *E. coli* pomocí PCR s již výše zmíněnou detekcí, včetně stanovení biologické aktivity kolicinů kvalitativně vpichovým pokusem,
- optimalizaci multiplex PCR (mono- až triplex PCR) s následným využitím duplex PCR systému pro detekci kolicinů a mikrocinů na čtyřech kolicinogenních kmenech izolovaných z povrchu chlazené drůbeže.

V diplomové práci se občas vyskytují překlepy, chybějící mezery, chyby v interpunkci, chybný slovosled, chybné či špatně znějící formulace. Příklady a pár osobních připomínek, které ale práci neubírají významnost:

- str. 13 - *...mohou vyrůst až do selhání ledvin...* jistě šlo použít lepší formulaci;
- str. 14 - prohozené číslování literatury, nejprve uveden literární zdroj č. 22 a poté až literární zdroj č. 21;
- str. 21 - *...Ve svých důsledcích se tyto výhody projeví včasnou a přesnou diagnostikou při respektování komfortu pacienta. Zásadní nedostatek: na konci reakce nekoreluje množství PCR produktu s počtem cílových sekvencí ve vzorku...* preferovala bych tento poznatek popsat souvislou větou, nikoliv heslovitě;
- str. 23 - *...Kromě Taq DNA-polymerázy jsou používány také Pwo a Pfu DNA polymerázy. Tento enzym má kromě polymerázové aktivity také 3'→5' exonukleázovou aktivitu umožňující opravu chybně inkorporovaných deoxynukleotidů...* Autorka mluví o jednom enzymu, ale na začátku odstavce jsou uvedeny enzymy dva a to Pwo a Pfu DNA polymeráza;
- často chybí mezery v sekci materiály a metody – např. str. 31 - 20μl, 0,5M EDTA;
- str. 38 *... poté přelity 3 ml 1,05% agaru s 0,1 ml kultury indikátorového kmene narosteného přes noc. Jako indikátorové kmeny bylo použito 5 kmenů E. coli ...;*

- str. 44 ...Supernatant byl odlit a zbytek resuspendován...(pozn. z celkového objemu 500 µl zní tato formulace opravdu velmi podivně, slovo zbytek bych nahradila vhodnějším slovem – např. sediment);
- některé zkratky, použité v této diplomové práci, nejsou uvedeny v Seznamu zkratek (AMK – aminokyselina, dTTP - deoxytymidintrifosfát ,...). V některých případech zkratka není vysvětlena a ani uvedena v seznamu zkratek – cDNA (str. 21), dusíkaté báze (str. 22), dsDNA (obrázek č. 3 na str. 26), EDTA a SDS (str. 31), ...;
- uvítala bych v celé diplomové práci použití stejného formátu tabulek – včetně stejného formátu nadpisu (např. na konci s tečkou), dále u uvedeného pH stejný počet desetinných míst (str. 30 pH 6,8 – 7,0).
- odkaz v textu na tabulku 4 je na str. 30, přičemž zmiňovaná tabulka 4 je až na str. 34, což mi přijde dosti nepřehledné. Uvítala bych také, kdyby autorka nerozdělovala pro vyšší přehlednost tabulku na více stránek, pokud je to možné (jako u tab. 1).

Část diplomové práce Výsledky a diskuze je zpracována na velmi vysoké odborné úrovni, včetně rozsáhlé diskuze, tj. porovnání získaných výsledků s výsledky z jiných literárních zdrojů. Výsledky zahrnuté v této diplomové práci byly navíc prezentovány na konferenci XIV. Setkání biochemiků a molekulárních biologů pořádané Masarykovou Univerzitou v Brně, jak je uvedeno v příloze.

Dotazy:

1. Na str. 14 jsou uvedeny nalezené typy kolicinů a mikrocinů u kmenů izolovaných od osob žijících v Austrálii, existují studie, kde je toto samé (tj. typy bakteriocinů) uvedeno pro osoby žijící v ČR?
2. Z kolicinů je v teoretické části podrobněji popsán kolicin E1 a kolicin D, proč jich není popsáno více? Uvítala bych popis kolicinů, které byly nejčastěji zastoupeny u drůbežích izolátů (viz. Výsledky a diskuze).
3. Autorka zmiňuje časovou náročnost tradičních metod identifikace patogenů z potravin, prosím o „časové“ srovnání metod detekce bakteriocinů použitých v této diplomové práci – tj. vpichový pokus versus metoda PCR.
4. Proč se testovaly u průkazu *E. coli* pomocí PCR metody pouze teploty 56,6 °C a 56,9 °C? Proč ne více teplot? Autorka posléze píše, že z vyhodnocených výsledků bylo zjištěno, že nejvhodnější annealingová teplota pro použité primery je 56,9 °C. Osobně bych neuváděla při testování dvou teplot, že jedna z nich je nejvhodnější, pouze že zmíněná teplota je vhodnější než druhá testovaná.

Studentka Bc. Lucie Janáková splnila poctivě všechny zadané cíle diplomové práce. Tuto diplomovou práci doporučuji k obhajobě a celkově ji hodnotím klasifikačním stupněm **A-výborně**.

Návrh na klasifikaci diplomové práce:

A - výborně

Mgr. Šárka Rösnerová

podpis recenzenta diplomové práce

V Hořicích dne 31.5. 2010

Stupeň klasifikace

A - výborně	B - velmi dobře	C - dobře	D - uspokojivě	E - dostatečně	F - nedostatečně
-------------	-----------------	-----------	----------------	----------------	------------------

