

## Posudek oponenta diplomové práce

Název diplomové práce: **Detekce kontaminace buněčných linií**

Jméno autora: **Bc. Monika Pešková**

Jméno oponenta: Mgr. Veronika Šmídová

Cílem předložené diplomové práce byla: Detekce kontaminace buněčných linií pomocí mtDNA za použití fragmentační analýzy. Metoda druhové identifikace byla převzata z článku *Species identification in cell culture: A two-pronged molecular approach (Cooper, 2007)*. V diplomové práci byl popsán postup optimalizace metody a převedení na fragmentační analýzu pomocí kapilární elektroforézy.

V teoretické části jsou krátce vysvětleny termíny související s druhovou identifikací, profilováním pomocí mtDNA a fragmentační analýzou. Dále jsou zmíněny základní techniky molekulární biologie, jako různé druhy PCR. Tyto techniky úplně nesouvisí s touto prací.

V kapitole 2.2.2.2 Reverzní transkriptázová PCR autorka chybně popisuje tuto metodu. V celé této kapitole jsou zásadní chyby, na přiloženém obrázku je schéma inverzní PCR nikoli RT-PCR. Došlo zde k záměně komplementární DNA (cDNA) za kruhovou DNA a špatnému popisu reverzní transkriptázy (zde chybně označena jako restriční enzym). Tuto kapitolu by bylo vhodné opravit.

Experimentální část práce je přehledně rozdělena do jednotlivých kroků, bohužel není jasný časový průběh experimentů a jejich posloupnost. V kapitole 4.5 Koncentrace templátové DNA je uvedeno množství DNA v reakci přibližně 1 ng. Autorka použila do reakce DNA o koncentraci 0,25 ng/μl v objemu 2,3 μl, což se neshoduje s předchozím tvrzením. Výsledky jsou prezentovány formou tabulek a obrázků. V experimentální části jsou průběžné výsledky hodnoceny pouze slovně. Technické parametry a nastavení fragmentační analýzy zde není popsáno. V závěru autorka popisuje možné využití metody detekce kontaminace buněčných linií a její výhody.

Počet citací odpovídá rozsahu diplomové práce. Seznam použité literatury by měl být seřazen abecedně, nebo číslován pro lepší orientaci.

V předložené práci bylo splněno zadání. Kapitulu 2.2.2.2 Reverzní transkriptázová PCR doporučuji opravit. Práci hodnotím známkou C.

V Hradci Králové 27. 7. 2020

Veronika Šmídová



**Doplňující otázka:**

Co je reverzní transkriptázová PCR, k čemu se používá?

Jaký je rozdíl v izolaci mtDNA oproti izolaci gDNA?

Jaké bylo nastavení fragmentační analýzy, jaká byla použita kapilára a detektor?