

Posudek na diplomovou práci Bc. Kateřiny Štemberkové
Optimalizace metody přípravy kompetentních bakterií *Escherichia coli*

Bc. Kateřina Štemberková pracovala na své diplomové práci v laboratořích firmy Generi Biotech s.r.o. Co bylo cílem její práce, se dovídáme z názvu a diskuse. Je to cíl překvapivě nízký. Bc. Štemberková se věnovala zavedení přípravy kompetentních buněk v Generi Biotech, a to podle postupu popsáno v literatuře. Příprava kompetentních *E. coli* patří dnes k repertoáru metod používaných v molekulární biologii zcela běžně. Čtenář by tedy očekával, že se Bc. Štemberková pokusí metodu nějakým způsobem inovovat, nebo že ji vyzkouší na širším souboru bakteriálních kmenů. Nic z toho se ale zřejmě nestalo. Bc. Štemberková používá jen *E. coli* DH5 α a metodu dle Inoue. Mění pouze některé parametry metody, např. velikost inokula či optickou densitu kultury v jednotlivých krocích. Je pochopitelné, že každá laboratoř se snaží standardizovat protokol (nejen) pro přípravu kompetentních buněk. Je ale otázkou, jestli je takováto standardizace sama o sobě dostatečnou náplní diplomové práce v roce 2013. Práce Bc. Štemberkové by byla jistě výborná, kdyby byla prezentována v rámci Středoškolské odborné činnosti.

Z formálního hlediska je největším problémem nesoulad mezi obsahem teoretické a experimentální části. Zhruba polovina teoretické části je věnována popisu základních principů molekulárního klonování, kterým se však Bc. Štemberková ve své experimentální práci nezabývala. Je pravda, že popsat principy molekulárního klonování dostala diplomantka za úkol v Zadání diplomové práce (Zásady pro vypracování). V celkovém kontextu ale tato část působí jako umělé zvyšování počtu stran popsáno papíru. Teoretická část navíc připomíná spíš výpisky z učebnic, než přehled současného stavu literatury.

Kromě základní otázky, proč tato diplomová práce neobsahuje skutečné experimenty a skutečnou rešerši, mám tyto další dotazy a připomínky:

1. Z jazykového hlediska není šťastné používat slova *vyautoklátovat*, *stočit*. Autorka opakovaně používá slovo *tuba*. Jednalo se skutečně o tubu, v jaké uchováváme zubní pastu, nebo to byla zkumavka? Největším problémem je ale slovo *štok* (viz např. název kapitoly *Příprava štoků ze štoků základních*). Snad by bylo lépe říkat *zásobní kultura*, nebo nalézt jiný, vhodnější termín.
2. Proč bylo důležité mít zásobní kultury („štoky“) připravené z kultur o OD₆₀₀=0.81? Proč bylo potřeba zjistit, do jaké OD₆₀₀ dorostou kultury za 8 hodin (str. 47), když v další práci byly všechny kultury inkubovány déle?
3. Proč v metodické části i v prvním odstavci na str. 49 autorka uvádí, že bylo vhodné ředit kulturu 1:25, když z tabulky č. 7 a 8 vyplývá, že by bylo lepší ředění 1:33? Které ředění bylo nakonec použito?
4. Na str. 52 nahoře autorka uvádí, že se ukázalo jako vhodnější sledovat u bakteriálních kultur hodnoty OD₆₀₀ než dobu inkubace. Myslela si snad autorka zpočátku opak?
5. Tabulky na str. 55 a 56 ukazují, že přes veškerou standardizaci podléhá práce s živým materiálem vždy určitým přirozeným fluktuacím (srv. např. experiment č. 7). Bylo by tedy vhodné zaměřit úsilí nějakým produktivnějším směrem.

S výše uvedenými výhradami doporučuji diplomovou práci Bc. Kateřiny Štemberkové k dalšímu řízení a navrhuji klasifikaci stupněm **dobře**.



V Praze, 26.5. 2013

RNDr. Olga Hrušková, CSc.