

Posudek oponenta na diplomovou práci

V předkládané diplomové práci se **Bc. Jitka Jelínková** věnuje metodám amplifikace a izolace plasmidové DNA u třech kmenů *Escherichia coli*, které byly transformovány 8 vybranými plasmidy používaných v laboratořích společnosti Generi-Biotech, Hradec králová. Byl rovněž testován vliv čtyř kultivačních medií na výtěžnost amplifikace. Vlastní izolace plasmidové DNA byla provedena komerční izolační soupravou a koncentrace plasmidové DNA byla proměřena spektrofotometricky za současného ověření velikosti a čistoty plasmidu elektroforézou v agarózovém gelu.

Vlastní práce je zpracována na 87 stranách, obsahuje 38 tabulek, 13 názorných obrázků a 9 grafů. Studentka ve své práci vychází z 26 zdrojů převážně zahraničních autorů, což se mi na poměrně obsáhlou práci zdá málo.

Po formální i obsahové stránce odpovídá diplomová práce zadaným cílům. Kapitoly teoretické části i experimentální část společně s výsledky, diskusí i závěrem si navzájem proporčně odpovídají. Stylisticky se v práci občas objevují nepřesnosti a ne zcela správné formulace, které patrně vznikly při překladu z cizojazyčných zdrojů. Některé pasáže jsou podány vysoce odborně, naopak v kapitole 3. 5. jsou pracovní postupy měření koncentrace plasmidové DNA a gelová elektroforéza popsány zbytečně podrobně, ačkoliv to jsou dnes již běžné a široce používané metodiky. Některé pasáže v pracovních postupech by šly jistě zkrátit, viz na straně 49 „sterilní vyžíhanou skleněnou hokejkou byla na vyhřátý LB agar natřena krouživými pohyby buněčná suspenze, nátěr se nechal zaschnout a poté byla popsána miska převrácena víčkem dolů a inkubována přes noc při 37°C“. Stačilo napsat, že suspenze byla inokulována na LB agar roztěrem a misky byly inkubovány přes noc v termostatu při 37°C v zavěšené poloze.

Kapitola výsledky je poměrně obsáhlá, obsahuje velké množství tabulek a grafů, ve kterých se čtenář brzy ztrácí, je tedy na čtení dost nezáživná.

Zajímavé je i podání kapitoly diskuse v množném čísle, takže čtenář trošku znejistí, jestli autorka skutečně uvedenou práci zpracovala samostatně, jak je uvedeno v úvodním prohlášení.

Předložená práce je přesto velice zajímavá, diplomantka provedla skutečně velké množství experimentů, osvojila si řadu metod, které pečlivě opakovala a pokusila se i o statistické zhodnocení. Získané výsledky jsou cenné a přínosné pro další praxi.

K práci mám následující připomínky a dotazy:

- Na straně 28 konstatuje autorka, že *E. coli* není vybíravý mikroorganismus. Taková tvrzení se hodí spíše pro populárně-naučnou literaturu.
- Str. 29: je na začátku kapitoly 2.2. uvedeno, že *E. coli* je tyčinkovitá bakterie s kruhovitými chromosomy dlouhými 3 miliony párů bází. Kolik chromosomů má *E. coli*?
- Na straně 36 je nesprávný překlad z angličtiny: CsCl je v češtině chlorid cesný, nikoliv cesium chlorid
- V diskusi autorka uvádí, že používané PDM médium mělo pH 6,5, což mohlo negativně ovlivnit výsledky. V experimentální části je však uvedeno, že hodnota pH všech testovaných médií byly upravena na hodnotu 7,2 ?

Předložená diplomová práce řeší zajímavé a aktuální téma. Konstatuji, že se diplomantka maximálně snažila splnit zadání a přes uvedené nedostatky, které souvisí s jistou nezkušeností autorky při zpracování své první odborné práce, navrhuji práci k obhajobě a hodnotím známkou **výborně mínus**.

V Pardubicích dne 24. 5. 2012

Ing. Marcela Pejchalová, Ph.D.

