

Oponentský posudek

na disertační práci Ing. Michaely Čutové

„IZOLACE A ANALÝZA DNA SE ZAMĚŘENÍM NA MIKROORGANISMY DŮLEŽITÉ V POTRAVINÁŘSTVÍ“

Ve své disertační práci se studentka Ing. Michaela Čutová věnovala izolaci a analýze DNA u mikroorganismů významných v kontextu potravinářských technologií. Práce je vypracována na 111 stranách a je členěna standardně, celkově ve své práci studentka čerpala z přibližně 150 literárních zdrojů, v drtivé většině se jedná o publikace v recenzovaných časopisech, nicméně v několika případech studentka využila také možnosti citovat webové stránky, přičemž rok citace je velice neaktuální (2012-2014). Podle mého názoru se studentka měla těmto nepříliš hodnotným informačním zdrojům vyhnout. Forma uvedení citačních odkazů v textu (jméno autora/autorů a rok uveřejnění práce) zcela neodpovídá citační formě standardně využívané na VUT, nicméně je přehledná a plní svou funkci - umožňuje vyhledání zdroje informace. Samotné citace se zdají být zpracovány velice pečlivě.

Text práce je sepsán srozumitelně a čitelně. Byť práce není zcela prostá překlepů a drobných chyb, jejich výskyt není příliš častý a neruší při čtení textu. Struktura textu je logická a srozumitelná. Trochu nešťastné je vřazení kapitoly „Úvod“ do teoretické části práce. Lepší by bylo, kdyby kapitola „Úvod“ stála samostatně a přibližovala čtenáři odborné důvody a motivace, které vedly k vypracování dané práce.

Teoretická část práce se mi zdá být poněkud nevyvážená jak po odborné tak i po obsahové stránce. Teoretická část se věnuje převážně přípravě a využití magnetických nosičů v kontextu biologických věd. Nicméně v rámci experimentů byla řešena také řada dalších úkolů a témat, které jsou v teoretické části popsány jen velice stručně (invertované repetice a kvadruplexy), případně v teoretické části zcela chybí (metody používané k disrupci buněk, současný stav poznání v oblasti analýzy probiotických výrobků atd.). Naopak v rámci disertační práce mi kapitoly věnované obecnému popisu PCR a agarózové elektroforézy přijdou jako zcela zbytečné.

Experimentální část práce je zpracována přehledně a poskytuje srozumitelný přehled o provedených experimentech a analýzách. Nicméně v toku textu postrádám řadu informací, které by zdůvodnily některé použité experimentální strategie – např. proč byly v různých částech práce zvoleny různé magnetické nosiče, proč byl postup adsorpce a eluce DNA z nosičů optimalizován jen pro jeden z použitých systémů, proč bylo pro optimalizaci využito DNA z kuřecích erytrocytů a ne bakteriální

DNA atd. Kapitola 3.17 věnující se metodologii bioinformatické analýzy je pak stručná až do té míry, že poskytuje minimum informací.

Výsledky práce a jejich diskuze jsou rozděleny do dvou nezávislých kapitol. Výsledky jsou prezentovány rozumnou a srozumitelnou formou tabulek a obrázků, nicméně v několika případech (např. tabulka 9) je prezentace výsledků v důsledku nešikovného formátování poněkud matoucí. Výsledky dosažené v práci mají své praktické využití a mohou sloužit především jako metodologický podklad pro navazující práce věnující se molekulární analýze probiotických potravin a obdobných vzorků. Nicméně v rámci práce obecně postrádám hlubší diskuzi výsledků. Práce se do velké míry omezuje na prostý popis získaných dat a čtenáři nenabízí žádné možné interpretace pozorovaných fenoménů. Obzvláště je tato skutečnost patrná v kapitole 4.6 a související diskuzi. Pouhá čísla o počtu invertovaných repetice a kvadruplexů v analyzovaných genomech neposkytují příliš mnoho informací. Nabízí se srovnání zjištěných hodnot s jinými organismy, biologická interpretace získaných dat případně alespoň krátké zamyšlení o jejich možné aplikačním využití, nicméně obdobné pasáže v textu chybí. Na druhou stranu nelze opomenout vysokou originalitu a potenciálně velký význam získaných dat.

Na studentku mám několik dotazů:

1. Na straně 23 studentka uvádí, že elektrostatické interakce jsou podporovány iontovou silou, prostředí je tomu opravdu tak? Proč nebyly při optimalizaci adsorpčních podmínek DNA na magnetické nosiče kromě pH optimalizovány také iontové síly pufrů?
2. Na straně 24 studentka uvádí, že „vazba je pevnější zvyšováním entropie a s malou nebo nulovou hodnotou entalpie“. Mohla by své tvrzení vysvětlit?
3. Studentka lytický účinek „pracích prášků“ připisuje enzymům, nicméně je dost pravděpodobné, že k disrupci buněk budou přispívat i detergenty. Bylo by na místě uvést dostupné informace o složení jednotlivých preparátů a diskutovat jejich lytický účinek v tomto kontextu.
4. Motivace volby jednotlivých magnetických nosičů používaných v různých etapách není v práci nijak popsána. Mohla by studentka popsat, proč byly v různých experimentech použity různé magnetické nosiče?
5. Mohla by studentka v krátkosti formulovat biologické a případně i technologické interpretace dat získaných pomocí bioinformatické analýzy genomů vybraných potravinářsky významných mikroorganismů?
6. Proč nebyly invertované repetice analyzovány také u studovaných bakterií?

Závěrem je možné konstatovat, že studentka prokázala schopnost samostatné vědecké práce, zpracování, vyhodnocení a diskuze dosažených výsledků. Předložená dizertační práce Ing. Michaely Čutové splňuje po stránce vědecké, obsahové a formální požadavky stanovené příslušnými vyhláškami pro získání vědecko-akademické hodnosti. Proto navrhuji, aby Ing. Michaela Čutové byla po úspěšné obhajobě a zodpovězení všech otázek udělena akademická hodnost Ph.D. ve studijním programu Chemie a technologie potravin.

V Brně dne 27.11. 2019

doc. Ing. Stanislav Obruča, Ph.D.