

Oponentský posudek na bakalářskou práci Evy Drskové „Izolace jednotlivých klonů evropských druhů *Borrelia afzelii* a *Borrelia finlandensis* a detekce plasmidů“

Eva Drsková předložila bakalářskou práci zabývající se obsáhlým screeningem přítomnosti extrachromosomální DNA v evropsky nejdůležitějších izolátech komplexu *Borrelia burgdorferi* sensu lato pomocí PCR se specifickými primery. Přítomnost vybraných plasmidů u některých izolátů byla dále ověřována DNA hybridizací (dot blot) a také na proteinové úrovni (SDS-PAGE, imunoblot). Z pohledu oponentky se jedná o velmi atraktivní a novátorské téma, které dosud nebylo studováno v širších souvislostech.

Předkládaná práce o rozsahu 38 stran má obvyklé členění, jednotlivé oddíly se však dosti liší jak rozsahem, tak kvalitou. Literární úvod do problematiky zaujímá včetně tří poměrně velkých tabulek pouhých sedm stran, nicméně tento minimalismus je nakonec pro čtenáře určitou úlevou. Stavba vět, slovosled a výrazivo zhusta odpovídají doslovnému překladu z angličtiny bez jakékoli úpravy. Latinská označení rodu a druhu, např. *Borrelia*, se vždy píšou kurzívou a zásadně se neskloňují ani jinak neupravují (již v názvu práce uvádíte *Borrelie afzelii* místo *Borrelia*). Na druhé straně, v českém textu lze používat i tvar borelie (malé b, jedno r, ne kurzíva), které se normálně skloňuje. Jakýkoliv hybrid mezi těmito dvěma možnostmi je chybný. Stejně tak je možno psát spirocheta i spirochéta, je však třeba zvolit jednu z možností a tu používat. Tečka za větou se píše až za závorku s citací. Vektor, nikotin apod. se píšou s k. Tyto a mnohé další jazykové nedostatky způsobily, že literární úvod není čtivý ani příliš srozumitelný.

Naopak metodika je popsána dobře, místy až zbytečně podrobně, zde snad jen tři drobné poznámky: a) rychlost centrifugace je třeba udávat v násobcích tíhového zrychlení, ne v otáčkách za minutu; b) dodržujte jednotný mluvnický čas ve všech kapitolách (kapitoly 6.7 a 6.8 jsou psány jako jediné v minulém čase); c) v odborném textu se nebojte občas ponechat slovo cizího původu, např. místo „zandávání“ na Petriho misky by lépe znělo např. „aplikace“.

Výsledková část působí dojmem, že jste pod vedením Vašeho školitele udělala spoustu práce a je zřejmé, že možnost získat jednotlivé klony borelií za směsných izolátů je logickým a nezbytným krokem pro jakoukoliv další manipulaci se spirochetami. Chválím poměrně slušné fotografie agarózových gelů, na druhou stranu u westernblotu by chtělo vylepšit kontrast. Tabulky a obrázky by si zasloužily podrobnější komentář a samovysvětlující legendu, u některých bylo poměrně těžké odhalit, co tím chtěla autorka říci. Diskuze podrobněji osvětluje důvody pro řešení cílů Vaší práce a komentuje dosažené výsledky, ale postrádám v ní konfrontaci se závěry ostatních autorů.

Na autorku mám následující otázky:

- 1) Kolikátá pasáž jednotlivých druhů/kmenů/izolátů borelií byla analyzována? Pakliže se plasmidy během *in vitro* kultivace ztrácí, která pasáž je podle Vás už riziková z hlediska pravděpodobné ztráty infekčnosti? Lze vůbec odhadnout nějakou obecnou hranici?

- 2) Kap. 7.2: Jak je myšlena věta „Část plasmidu, která je amplifikována metodou PCR nemůže být detekována u všech druhů borélie.“?
- 3) Jaké výsledky přinesla sekvenace PCR produktů?
- 4) Ad Obr. 8: V textu píšete, že v izolátech 1 a 7 chybí 3 antigeny, konkrétně lp28-3 u vzorku 1 a lp28-8 u vzorku 7. Který je ten třetí chybějící antigen? Podle fotografie se nezdá, že by ve výšce spodní šipky (cca 15 kDa) v některé dráze něco chybělo. Podle čeho usuzujete, že chybějící proužky o přibližné velikosti 45 kDa a 75 kDa odpovídají právě plasmidu lp28?
- 5) Ad Obr. 9 a 10: Jak si vysvětlujete, že velikost spotů (síla signálu) dost často neodpovídá množství DNA nanesené na membránu?

Celkové hodnocení: Přes uvedené výhrady a nedostatky se domnívám, že bakalářská práce Evy Drskové splňuje požadavky kladené na tento typ prací na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity a **doporučuji** ji k obhajobě.

V Českých Budějovicích 19. ledna 2014



RNDr. Helena Langhansová, Ph.D.