

POSUDEK BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Jméno a příjmení studenta: *Kristýna Roštíková*

Studijní obor: **Zdravotní laborant**

Oponent bakalářské práce: Ondřej Scheinost

Katedra/ústav:

Název bakalářské práce: Optimalizace amplifikace DNA izolované z bukalních stěrů pro účely sekvenování

Volba tématu:

1. Mimořádně aktuální
2. Aktuální pro danou oblast
3. Užitečné a prospěšné
- ④ Standardní úroveň**
5. Neobvyklé

Cíl práce a jeho naplnění:

1. Vhodně zvolený cíl, který byl naplněn
- ② Vhodně zvolený cíl, který byl částečně naplněn**
3. Vhodně zvolený cíl, který nebyl naplněn
4. Nevhodně zvolený cíl

Struktura práce:

1. Originální – zdařilá
2. Logická – systémová
- ③ Logická – tradiční**
4. Pro dané téma nevhodná

Práce s literaturou:

1. Vynikající, použity dosud neběžné prameny
2. Velmi dobrá, použity nejnovější dostupné prameny
- ③ Dobrá, běžně dostupné prameny**
4. Nedostatečná – s ohledem na požadovaný počet nebo kvalitu

Vybavení práce (data, tabulky, grafy, přílohy):

1. Mimořádné, funkční
2. Velmi dobré, funkční
- ③ Odpovídá nutnému doplnění textu**
4. Nedostačující

Přínosy bakalářské práce:

1. Originální, inspirativní názory
2. Ne zcela běžné názory
- ③ Vlastní názor argumentačně podpořený**
4. Vlastní názor chybí

Uplatnění bakalářské práce v praxi a ve výuce:

1. Práci lze uplatnit v praxi
- ② Práci lze uplatnit ve výuce**
3. Vhodná pro publikování
4. Práci nelze příliš využít ani v praxi ani při výuce

Formální stránka:

1. Výborná
2. Velmi dobrá

③ Přijatelná

4. Nevyhovující

Jazyková stránka:

1. Stylistika a) výborná
b) velmi dobrá
c) dobrá
d) nevyhovující

2. Gramatika a) výborná
b) velmi dobrá
c) dobrá
d) nevyhovující

Zásadní připomínky k bakalářské práci:

1. nemám
2. mám tyto:

Práci studentky Kristýny Roštíkové hodnotím již podruhé, tentokrát její přepracovanou verzi. Práce doznala výrazného zlepšení, přesto mám tyto připomínky:

Úvod je rozsáhlý, studentka podává vysvětlení mnoha metod, které dle mého názoru ani příliš nesouvisí s tématem práce. Cíl práce je dobře definován, i když s názvem práce souvisí jen z malé části – ale to je problém zadávání práce a možnosti provádění případných změn.

V teoretickém úvodu se studentka příliš drží citovaných textů, jejich spojení někdy dává jiný či nekompletní smysl, popř. se některá tvrzení opakují (kapitola Biologický materiál na str. 10 a 11, Sekvenování nové generace na str. 23 a 24). Při snaze o doplnění chybějících metod autorka uvádí i metody již obsolentní, které se k diagnostice ani historicky nikdy nepoužívaly (RAPD na str. 12). Na str. 17 jen upozorňuji na označení „světelné termocyclery“ – pravděpodobně se jedná o nevhodné použití komerčního názvu prvního Real Time cycleru „Light Cycler“. V kapitole 4 – „Elektroforéza nukleových kyselin“ je velice nepřesné rozdělení na jednotlivé kapitoly, pulzní, denaturační i kapilární elektroforéza jsou všechny gelové, v oddílu „Kapilární elektroforéza“ měla být vynechána fakta, která se netýkají nukleových kyselin; zcela zde chybí poznámka o sekvenování (sekvenátor je kapilární elektroforéza). Kapitola 5.2 a 5.3 popisují stejnou metodu různými literárními zdroji.

V kapitolách Metodika a Výsledky studentka výstižně popisuje postup a objem práce, kterou osobně vykonala, výsledky demonstruje na velkém množství tabulek. Nejdříve jsem nechápal, proč neprováděla párové testy na stejných vzorcích (např. vzorky uchované při pokojové teplotě a stejné vzorky uchované v ledničce) – několikrát se zde opakoval popis odběru 42 vzorků od různých osob a výsledky u jednotlivých vzorků jsou tak rozdílné! Až v diskusi (mimochodem poměrně zdařilé) jsem se dozvěděl, že tak velké rozdíly mezi jednotlivými vzorky by možná mohly být způsobeny tím, že mnoho vzorků jsou vlastně opakované odběry od jedné osoby ve stejný čas, takže pozdější odběry už vlastně neměly co stírat. Toto je zásadní metodické pochybení a vlastně se tak vysvětluje velká variabilita v množství DNA, která převyšuje případné rozdíly způsobené podmínkami uchování a znemožňuje dosažení zadaného cíle. Zároveň si uvědomuji, že toto je spíš problém zadavatele tématu bakalářské práce než studentky samotné.

Naměřené výsledky jsou přehledně zpracovány i v grafech a vítám vyslovení závěru (byť s ohledem na výše zmíněné bez praktického významu). Velkou chybou (i když jí autorka přiznává) je vynechání části vzorků pro další analýzu, protože „měla málo jamek v gelu“.

Stejně tak vynechání vzorků, kde nebyl viditelný produkt izolace na elektroforéze – PCR pracuje s minimálním množstvím DNA, které rozhodně není vidět okem na žádné elektroforéze.

Práce splňuje základní požadavky kladené na tento typ prací, a proto ji doporučuji k ústní obhajobě:

① **ano**

2. ne

Navrhovaná klasifikace: 1. výborně
2. velmi dobře

③ **dobře**

4. nevyhověla

Otázky k ústní obhajobě práce:

Jaký je rozdíl ve vazbě na silikagelovou membránu u metody 2.4 a na funkční povrch na základě silanolových skupin u metody 2.5?

Na str. 34 popisujete enzymatické přečištění PCR produktů od „inhibitorů... a zbytků vazebných nebo promývacích pufrů (různé soli, detergenty, alkoholy)“. Od čeho skutečně čistíte PCR produkty pomocí EXO/SAP?

Na obrázku 11 je zobrazen elektroforetický gel PCR produktů exonu 11 genu ALAS2 a Vy konstatujete, že amplifikace DNA proběhla v pořádku. U většiny vzorků jsou vidět dva PCR produkty, očekával bych (u PCR s jedním párem primerů) produkt jeden. Napadá Vás, proč se mohou objevit na elektroforéze dva produkty?



Datum: 18. 5. 2023 Podpis oponenta bakalářské práce