

Téma diplomové práce	<b>Control positive and negative in construction of microarrays of Brucella DNA</b>
Jméno studenta, studentky	<b>Kristýna Pimková</b>
Jméno oponenta	<b>Prof. MUDr. Jaroslav Dršata, CSc.</b>

## II. Posudek oponenta

Předložená diplomová práce byla vypracována Na Universidad de Navarra, lékařské fakultě, katedře mikrobiologie a parazitologie, pod vedením Prof. Ignacio López-Goñi, vedoucím práce na naší fakultě byla prof. Kvasničková. Cílem práce bylo získat purifikované sondy pozitivní (konstitutivní gen brucelly) a negativní (gen pro fotosyntézu z Arabidopsis thaliana) pomocí metody PCR, dále hybridizovat sondu pozitivní kontroly a negativní kontroly s genomy brucelly a A. thaliana metodou Southern blott, a dále ověřit oba kroky a dostupnost kontrol pro microarray. Práce je obvyklým způsobem členěna a je přiměřeného rozsahu – 71 stran včetně tabulek, obrázků a seznamu literatury (18 položek včetně tří internetových odkazů). Diplomantka na základě svých pokusů uzavírá, že získané sondy byly připraveny v konkrétních koncentracích a byly použitelné pro konstrukci microarray pro brucellu. Metoda Southern blott byla optimalizována pro účely práce a touto metodou byla potvrzena specificita kontrol. Kontroly byly vázány pouze na své komplementární sekvence, přičemž komplementární sekvence pro pozitivní kontrolu byly jedinečné pro brucellu a negativní kontroly pro Arabidopsis thaliana. K obsahu práce nemám zásadní připomínky. Práce je napsána srozumitelnou angličtinou. Zaznamenávám, že pozitivní a negativní kontrola je uváděna v textu soustavně jako „Control positive and negative“ (adjektivum za substantivem – typické pro románské jazyky), bohužel i v názvu práce.

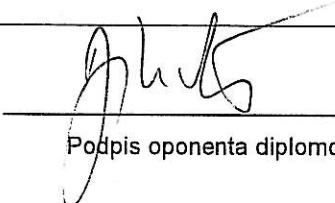
Na diplomantku mám dva dotazy:

1. Prosím o vysvětlení rozdílu mezi slepým pokusem a negativní kontrolou
2. Jak je zaručeno, že pozitivní kontrola obsahem a složením bazí skutečně odpovídá markeru. Jsou k dispozici ještě další důkazy?

Práce nepochybně přinesla výsledky, které španělské pracoviště využije v další práci. Zároveň tato práce splňuje požadavky, kladené na diplomovou práci a doporučuji ji k obhajobě.

Navrhovaná klasifikace **v ý b o r n ě**

V Hradci Králové dne 31. 5. 2006

  
Podpis oponenta diplomové práce



## Universidad de Navarra

Departamento de Microbiología y Parasitología  
Edificio de Investigación  
C/ Irunlarrea nº 1, 31008 Pamplona (España)  
www.unav.es/microbiol

Fax: (34) 948 425649  
Phone: (34) 948 425600  
E-mail: ilgoni@unav.es  
Dr. I. López-Goñi

Pamplona, May 10, 2006

To whom it may concern,

This is to inform that **Ms. Kristyna Pimkova** has been training in our laboratory under my supervision, during the first semester of academic course 05/06 as international student of the Erasmus-Socrates EU Program. She has been working in the research project **MOLECULAR CHARACTERISATION OF THE PATHOGENICITY OF *Brucella* USING microarray TECHNOLOGY** which is part of our research topics funding by national and international agencies. Brucellosis is one of the most frequent bacterial zoonosis in the world, with huge socio-economical consequences, particularly in several developing countries. The ethiological agent, *Brucella*, is adapted to intracellular life within a variety of cells, including macrophages. *Brucella* lacks classical virulence factors. Our **hypothesis** is that the capacity of *Brucella* to replicate intracellularly is genetically regulated by the bacteria, and the general objective **of the research project** is to identify the genetic determinants that contribute to their virulence and pathogenicity by the construction of *Brucella* DNA microarray with PCR products using a *Brucella* genomic library. The Ms. Pimkova's research project was related with the construction of this *Brucella* DNA microarray.

During her stay among us, she demonstrated great capacity and competence to performed laboratory practical work. Her dedication and personal qualities allow her to work in a team and to dedicate to scientific research. For these reasons, I have not doubt to recommend to take into consideration her successfully and excellent training in our laboratory in her academic records. Do not hesitate to contact me if you need additional information.

Sincerely yours,

Prof. Ignacio López-Goñi  
Department of Microbiology and Parasitology