

Posudek disertační práce Mgr. Jana Hodka
Vývoj a validace metod pro detekci GMO

Předložená disertační práce, byla vypracována ve Výzkumném ústavu rostlinné výroby, v.v.i. v Praze, pod vedením školitelky Doc. RNDr. Jaroslavy Ovesné, CSc. I když v České republice je povoleno komerčně pěstovat jedinou geneticky modifikovanou plodinu, kterou je kukuřice firmy Monsanto MON 810, problematika detekce tohoto typu plodin je sledovaná nejen odbornou veřejností, ale také celou řadou různých občanských aktivit. O aktuálnosti předložené disertace tedy není nutné diskutovat.

Práce měla stanoveny více cílů, které spojovala optimalizace izolace DNA studovaného organismu, její kvantifikace pomocí různých typů polymerázové řetězové reakce, studium inhibitorů PCR, řešení falešně pozitivních výsledků při stanovení GMO, vývoj detekce taxon-specifického genu hrachu setého pomocí real-time PCR. Posledním cílem bylo ověření vhodnosti metabolické analýzy s využitím vysoce účinné kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem pro detekci GM kultivarů kukuřice.

Autor Mgr. Jan Hodek při psaní své práce využil svých pěti publikací, které uvedl velmi kvalitním literárním přehledem (28 stran). Každý článek má vlastní diskusi a celá práce je zakončena diskusí (9 stran) věnovanou všem studovaným námětům. Seznam použité literatury pak obsahuje autory, kteří jsou citováni v literárním přehledu a v diskusi.

Klíčovým krokem detekce geneticky modifikovaných plodin je extrakce DNA, které musí předcházet mechanické ošetření rostlinného pletiva, lýze buněčných stěn a membrán včetně odstranění balastních látek. Zjištění, že nejkvalitnější výsledky poskytují protokoly využívající detergent CTAB potvrdilo jeho dominantní pozici nad dříve užívanými postupy s fenolem.

Mechanismus účinku inhibitorů polymerázové řetězové reakce spočívá buď v jejich přímé interakci s DNA, nebo ve snížení účinnosti termostabilní DNA polymerasy. Cílem inhibice DNA polymerasy jsou kofaktory tohoto enzymu, který pro svou aktivitu potřebuje ionty Mg^{2+} . Etylendiamin tetraoctová kyselina (EDTA), která je součástí některých komerčních pufrů redukuje obsah dostupných Mg^{2+} iontů a tak se snižuje výtěžnost PCR. Podobně prakticky jsou zaměřené i další sekce předložené disertační práce, která dokazuje velmi dobrou orientaci autora ve studované problematice.

Vzhledem k faktu, že publikace tvořící disertaci prošly standardními recensemi, by bylo malicherné hledat v předložených výsledcích nějaké „chyby krásy“. Mne osobně potěšily závěry poslední práce týkající se rozdílů metabolomických profilů konvenčních a GM kukuřic. Tedy hlavně fakt, že tak sofistikovaná analýza jakou je vysoce účinná kapalinová chromatografie ve spojení s kvadrupólovým TOF hmotnostním spektrometrem nenalezla rozdíly mezi těmito dvěma rostlinami.

Mgr. Jan Hodek dokázal připravenost k samostatné činnosti v oblasti výzkumu nebo vývoje, podle § 47, odst. 4, zákona č.111/1998 Sb., o vysokých školách. Doporučuji proto komisi pro obhajoby v programu P1519 Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie , Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy v Praze aby disertační práci **Vývoj a validace metod pro detekci GMO** přijala po úspěšné obhajobě jako podklad k udělení titulu PhD.

V Praze dne 14. srpna 2014

Doc. RNDr. Jarmila Pazlarová, CSc.