

Posudek na diplomovou práci Z.Hájkové

Jedním z nejvýznamnějších problémů současného zdravotnictví je šířící se rezistence na antibiotika. Z.Hájková předkládá k obhajobě diplomovou práci „Metabolická zdatnost a genová exprese u populace erytromycin rezistentních buněk *E.coli* rostoucích v kontinuální kultuře v přítomnosti a nepřítomnosti antibiotika“, která se váže k této problematice a její zadání je tudíž vysoce aktuální. Práce je součástí týmového řešení problému adaptivních mutací u bakterií rezistentních k antibiotikům a sledování vývoje rezistencí při dlouhodobých kultivacích, které mají alespoň částečně simulovat situaci ve střevě savců. Tím se vysvětluje propojení s výsledky kolegů na závěr kapitoly. Především, že práce mi byla přidělena teprve minulý týden, kdy jsem měl nabitý program, takže jsem měl na prostudování jen tři dny volna. Uvádím to proto, abych se omluvil, že za tak krátkou dobu jsem u práce evidentně šité horkou jehlou mohl některé nesrovnalosti přehlédnout.

Práce nese všechny znaky spěchu. Nelze tudíž po formální stránce probírat všechny překlepy a stylistické prohřešky. Vyznačil jsem je z části ve své kopii. Proberu je jen rámcově:

Seznam zkratek není úplný a je vlastně rozdělen na dvě místa (str.7 a str. 32.) . Desetinné členění kapitol je dodržováno jen v literárním přehledu. Tím se snižuje přehlednost práce. Některé obrázky nejsou číslovány, na závěr číslováno na přeskáčku a některá čísla jsou vynechána. Zkratky hodin a minut nejsou uváděny jednotně a správně. Jsou používány lidové a hantýrkové výrazy, např. ependorfka, glycerínka, zapříčiňovat, misinkorporace, matchování gelů. rozpoznat místo rozeznat, budou vést místo povedou, nesprávné rozdělování do odstavců (např.str.19- 2.odstavec) a do vět, řada nevysvětlených cizích slov (např. str. 25 represi heat shock proteinovou signaturu), používání nepřesných výroků či výrazů (str.68 ...různých mutací , ať už + nebo -..., str.69 ...generační čas místo generační doba...), nejednotné psaní chemických názvů (metionin místo methionin), často nesprávná interpunkce, dokonce i hrubky, zkrácená slova v textu, mnoho překlepů atd.atd. Alespoň pokud to jde, měla by autorka opravit dodatečně. Zanechala by za sebou nepěknou stopu.

Obsah proberu po kapitolách. Práce je členěna klasickým způsobem.

Nadpis: Obsahuje termín metabolická zdatnost, v textu se občas mluví o fyziologické zdatnosti a hlavně o životaschopnosti neboli fitness. Vzhledem k tomu, že jde o jeden z hlavních termínů, měl by se alespoň v nadpisu dobře promyslet. Myslím, že ...metabolická zdatnost... měřená rychlostí růstu není to nejlepší, anebo se termín z nadpisu měl objevovat i v textu systematicky..

Abstrakt je celkem výstižný.

Obsah se zaměřuje jen na hlavní kapitoly. Desetinné členění nadpisů a rozšíření obsahu i na kapitoly nižších řádů by zvýšilo přehlednost práce.

Seznam zkratek není úplný a nevystihuje často, jak byla zkratka vytvořena (to ale nepovažuji za vážnou výtku, mnoho lidí to tak dělá).

Úvod stručně a jasně navozuje atmosféru.

Cíl práce je výstižný a jasně formulovaný, je nastíněna i strategie řešení, ale jen náznakem. Škoda, bylo by to dobré vodítko.

Přehled literatury se bohužel většinou opírá o přehledné práce a je poněkud nevyvážený. Vedle stručných pasáží širšího přehledu bych očekával podrobnější zpracování těch pasáží, které se výsledků práce přímo týkají. Zadání tématu souvisí s rezistencí vůči antibiotikům, přičemž autorka většinou cituje přehledný článek Kaprálka (2001), a to ještě nepřesně (z roku 2001 má v seznamu články dva-a. b.). Rezistenci k antibiotikům věnuje v úvodu dvě stránky a erytromycinu, který používá, pouze jednu stránku. Fitness-životaschopnosti věnuje půl stránky, přesnosti translace stránku a v kapitole o kultivačních technikách věnuje turbidostatu, který používá jako hlavní zařízení, pouhých devět řádek, ve kterých čtenáře zmateně přesvědčuje (cituji), že regulačním činitelem je rychlost růstu kultury, která sama řídí rychlost přítoku čerstvého prostředí (str.19 -3.odst.). O chemostatu píše mnohem více. Vztah popsanych uspořádání k použitému postupu kontinuální kultivace je však poněkud mlhavý.

Prosím autorku, aby stručně popsala princip turbidostatu a zdůvodnila, proč jej vybrala pro svou práci. Co si autorka představuje pod termínem hustota buněk?(str.19. 3.odst.)

Ve výkladu o 2DE postrádám zevrubnější pojednání o různých omezeních této techniky, zejména o potížích s analýzou bazických proteinů a o tom, jak se mohou omezení odrazit na interpretaci výsledků.

Jaká jsou omezení 2DE a do jaké míry to mohlo ovlivnit výsledky této práce? Co autorka míní nepřesným tvrzením „komplexy SDS-protein mají stejnou hodnotu povrchového náboje“ a „délka komplexu je úměrná jeho molární hmotnosti. (str.22). Pozor na rozdíl barva a barvivo (str.23.-3.ř.)

Prosím o osvětlení rozdílů proteinový profil a signatura, z textu je mi to poněkud nejasné. Jaký je význam termínů represe heat shock proteinová signatura a relaxovaná signatura?(str.25-ř.3) O čem vypovídá kvantitativní analýza zastoupení jednotlivých proteinů v proteomu za určitých podmínek?(z textu kapitoly 4.3. to vyplývá jen nepřesně).

Kapitola Materiál a metody dobře popisuje, jak a co autorka dělala. Je tu ale řada nepřesností. Medium M9 s kaseinovým hydrolyzátem myslím nelze označovat za minimální medium pro E.coli. Hydrolyzát je obohacením minimálního media M9, které samo hydrolyzát nezahrnuje. Hydrolyzát je přídatek. Popis centrifugace pomocí rpm je nedostačující.

Na řadě míst jsou chybně psány chemické vzorce a názvy sloučenin jsou také někdy chybné(např, str.31, izopropanal str.32). Co to je O.D. a do jaké míry je dána její hodnota tím, co buňky pohlít (str.36-5.odst.). Co autorka míní tvrzením, že SDS dává proteinům uniformní záporný náboj?(str.40-poslední řádek).

Zpracování dat na str.42 nerozumím. Prosím o upřesnění a zdůvodnění.

Přes řadu nesrovnalostí v předcházejících kapitolách je hodnota kapitoly Výsledky poměrně nepoznamenána předcházejícími nepřesnostmi. Výstavba experimentů je

logická, závěry jsou přiměřené a zvolená strategie je sofistikovaná. Kvalita doprovodných tabulek a obrázků je dobrá.

Totéž lze říci o diskuzi. Je přiměřená a dobře vystihuje hlavní souvislosti. Postrádám zde jen větší komunikaci s literaturou a diskuzi některých metodických přístupů z hlediska jejich omezení (zejména interpretace 2DE a popisu rychlosti translace). Diskuze je napsána s lehkostí, možná až přílišnou. Lze ale očekávat, že rozeznání proteinů (a jejich podrobnější popis), které vedou k zlepšení životaschopnosti rezistentů respektive k vývoji rezistence umožní diskuzi prohloubit a znovu se ptát na validitu jednotlivých experimentů a případnou neúplnost experimentálních výsledků. Hlavní problém spatřuji v tom, že bude třeba odhalit adaptační změny, které se váží k zaznamenaným kvantitativním změnám profilů bílkovin a analyzovat podrobně změny kvalitativní. To by mělo mít zásadní význam pro pochopení adaptace a možná by se tím mohla otevřít cesta k něčemu úplně novému v budoucnosti.

Souhrn je celkem výstižný.

Seznam použité literatury je ve srovnání s ostatními diplomovými pracemi krátký (asi 30 položek) a obsahuje velkou frakci citací přehledných článků.

Závěr: Autorka zvládla řadu metod a naučila se je používat. Získala dostatečné množství hodnotných výsledků, které v zásadě správně interpretovala a diskutovala. Prostudovala řadu prací a prokázala, že se v nastudované literatuře orientuje. Přesto, že práce je po formální stránce poznamenána spěchem při sepisování a má řadu vědeckých nedostatků, doporučuji jí k přijetí za práci diplomovou s tím, že autorka opraví dodatečně alespoň ty nejdůležitější formální a obsahové nedostatky a vyjádří se smysluplně k námitkám, které jsem v posudku napsal tučně.

Hodnocení: Jde o to rozhodnout, zda vůbec práci akceptovat, anebo s podmínkou hodnotit třetím stupněm. Spoléhám na vyjádření školitele.

24.9.2007



Vladimír Vondřejš