

Posudek diplomové práce: Molekulární diagnostika ptačích schistosom při nákaze přirozených i náhodných hostitelů

Oponent: Jan Dvořák

Česká zemědělská univerzita v Praze,
Kamýcká 129, 165 21 Praha 6 – Suchbátka

.....
Ústav organické chemie a biochemie AV ČR
Flemingovo nám. 542/2, 160 00 Praha 6

Autor: Vladimír Šteiger

Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova
Studijní program: Biologie
Studijní obor: Parazitologie

Diplomová práce je zaměřena na zajímavé téma a to na molekulární diagnostiku ptačích schistosom u experimentálně nakažených přirozených ptačích a náhodných savčích hostitelů, a též mezihostitelských plžů. Práce vyhodnocuje vhodnost PCR metod pro detekci přítomnosti cell-free DNA. Cíle práce jsou dobře a logicky nastaveny a na práci je evidentní, že je podložena značným pracovním nasazením, kdy si autor osvojil řadu laboratorních metod. Přes mnohé experimentální neúspěchy nemám sebemenší pochyby o tom, že touto prací autor splnil kritéria kladené na diplomovou práci. Přesto mám několik připomínek a dotazů, které zde rozvádím níže v textu.

Literární přehled:

Je podle mého názoru výborně napsaný. Text vhodně a stručně vnese čitatele do parazitologické problematiky. Vlastní popis diagnostických metod je v této kapitole opravdu dobře a přehledně strukturován a může sloužit jako učební text molekulární diagnostiky. Práce též obsahuje impresivních 321 citací! V podstatě této kapitole není z mé strany co vytknout. Snad jen použití množného čísla v latinské podobě v českém textu pro schistosomuly mi přijde poněkud zvláštní, („Cerkárie jsou po penetraci transformovány na **schistosomula**, která v těle svých hostitelů vykazují...“ „V míše jsou **schistosomula** detekovatelná od 3 dpi u kachen a už 2 dpi u myší....“ atd.), ale předpokládám gramatickou správnost vzhledem k tomu, že je práce vypracována na parazitologii.

Materiál a metody:

Přes nespornou kvalitu kapitoly bych ocenil seřazení podkapitol v lepší logické posloupnosti. Například v pořadí popisu získávání materiálu z různých hostitelů podkapitoly nekorespondující se strukturou textu ve výsledcích atd.. Nicméně je to spíše detail a můj osobní názor. Našel jsem též několik nejasností, které uvádím v dotazech níže.

Výsledky:

Kapitola je koncipována přehledně. Mé výtky, či spíše dotazy jsou uvedeny níže. Jen mám poznámky ke kvalitě některých agarózových gelů. Zejména u obrázků č. 9 a 10 je evidentní příliš krátká doba běhu elektroforéz a nepřilíš dobré rozlišení.

Závěr:

Přestože jsou pro autora pravděpodobně vědecké výstupy s mnoha negativními či rozporuplnými výsledky frustrující realitou, autor si osvojil řadu postupů v molekulární biologii a výborně sepsal svou výslednou práci. Obzvláště kladně hodnotím kapitoly Literární přehled a Diskuzi. Ta první, jak jsem již zmiňoval, může sloužit jako učební text. Diskuze byla napsána velmi kriticky a obratně s řadou odkazů na podobné práce. Celkově je diplomová práce na vysoké úrovni a je jen škoda, že množství negativních výsledků neumožní v této fázi publikační výstup. Nicméně malé review týkající se molekulární diagnostiky v helmintologii si představit umím.

Výsledně hodnotím práci Vladimíra Šteigera velmi kladně a navrhuji proto jednoznačně diplomovou práci k přijetí s hodnocením **1**.

Otázky:

- 1) Proč byla u *cox* použita rozdílná teplota pro elongaci a to 68 °C?
- 2) Čas pro amplifikaci fragmentu *Sau3A* byl 15 sec u real-time PCR? Není to přece jen hraniční hodnota s ohledem k náběhu reakce, která mohla ovlivnit výsledek?
- 3) Čím si autor vysvětluje rozdílné detekční limity pro ITS sekvence u *T. regenti* a *T. szidati*?
- 4) Jak si autor vysvětluje nižší množství DNA u kachen s vyšší dávkou cercárií.
- 5) Není mi jasný rozdíl mezi optimalizačními experimenty a experimenty vlastními, kde výsledky byly pak jiné, spíše negativní. Může autor více objasnit tento rozpor?
- 6) Má autor data, zda u osob s vysokou koncentrací *fcDNA* byly též zaznamenány odlišné klinické příznaky, např. dermatitida? Či její průběh? viz Tab. 18.
- 7) Z hodnot přítomnosti DNA z *T. regenti* v nervové tkáni mi přijde, že toto hodnocení je spíše uměrné počtu parazitů v daném místě. Má autor data, zda vyšší množství DNA korelovalo se stavem infikovaných myší?
- 8) Čím si autor vysvětluje rozdíly mezi krevním sérem a plazmou?