

Posudek oponenta diplomové práce

Příjmení a jméno studenta:	Pavlíková Denisa
Studijní program:	N2808 Chemie a technologie materiálů
Studijní obor:	Inženýrství ochrany životního prostředí
Zaměření (pokud se obor dále dělí):	
Ústav:	Ústav inženýrství ochrany životního prostředí
Vedoucí diplomové práce:	Doc. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.
Oponent diplomové práce:	Doc. RNDr. Leona Buňková, Ph.D.
Akademický rok:	2014 - 2015

Název diplomové práce:

Izolace a charakterizace mikrobiálních degradérů aromaticko-alifatických polyesterů

Hodnocení diplomové práce s využitím klasifikační stupnice ECTS:

Kritérium hodnocení	Hodnocení dle ECTS
1. Splnění zadání diplomové práce	A - výborně
2. Formální úroveň práce, včetně jazykového zpracování	D - uspokojivě
3. Množství, aktuálnost a relevance použitých literárních zdrojů	A - výborně
4. Popis experimentů a metod řešení	B - velmi dobře
5. Kvalita zpracování výsledků	B - velmi dobře
6. Interpretace získaných výsledků a jejich diskuze	C - dobře
7. Formulace závěrů práce	A - výborně

Předloženou práci **doporučuji** k obhajobě a navrhuji hodnocení

B - velmi dobře

Komentáře k diplomové práci:

Předložená diplomová práce Bc. Denisy Pavlíkové se zabývá izolací termofilních bakterií, převážně aktinomycet, schopných degradovat poly(butylem adipát-co-tereftalát). Cíle práce byly splněny, z práce vyplývá, že uchazečka provedla velké množství experimentů.

Práce je vypracována podle stanovených zásad. Některé kapitoly jsou dle mého názoru příliš rozsáhlé a obsahují obecně známé údaje, např. v kapitole 4.3 týkající se agarózové elektroforézy (str. 38) je zbytečné uvádět obrázky různých komerčně dostupných markerů molekulových hmotností, obrázků navíc není příliš kvalitní. V metodické části je zbytečně podrobně popisovat postup izolace bakterií křížovým roztěrem (str. 58-59), tato technika je obecně známá a v tomto typu práce je dostačující, když uchazečka v jedné větě uvede, že k izolaci čisté kultury bakterií bylo použito opakované přeočkování bakterií křížovým roztěrem.

Výsledky experimentů jsou zpracovány, převážně formou tabulek a obrázků zobrazujících nárůst mikroorganismů na různých kultivačních půdách nebo amplifikaci požadovaných úseků DNA metodou PCR ve formě elektroforetického záznamu. Místy jsou však méně přehledné díky tomu, kvantita je v této části nadřazena nad přehlednost textu. Uchazečka se zřejmě snažila uvést všechny výsledky, je však zbytečné uvádět několik elektroforetických záznamů, ze kterých je patrné, že požadovaný produkt nebyl amplifikován. Místo toho bych raději uvítala tabulku (nebo tabulky), ve které by byly přehledně shrnuty výsledky optimalizace izolace DNA z bakterií schopných degradovat PBAT a její amplifikace, možné příčiny neúspěchu izolace DNA a bohatší diskuzi k těmto výsledkům, včetně srovnání s jinými autory. Rovněž je zbytečné ve výsledkové části neustále uvádět podmínky PCR, když jsou popsány v metodické části. V tomto případě se již zpravidla pouze uvádí použité primery a očekávaná velikost amplikonu.

Po formální stránce je práce napsána s velkým množstvím pravopisných a typografických chyb, poměrně často se také vyskytují formální a formulační nedostatky, z nichž namátkou vybírám:

- pravopisné chyby se vyskytují téměř na každé straně textu práce, zpravidla není dodržováno pravidlo shody podmětu a přísudku, nejsou správně skloňována zájmena a přídavná jména, apod.,
- v pasivu v minulém čase často ve větě chybí jedno sloveso (např. "Dále připravena PCR směs o objemu..."),
- překlepy typu "nukleonové kyseliny", "Erlenovy baňky", apod.,
- nesprávné psaní velkých a malých písmen,
- v seznamu zkratk nejsou uvedeny některé zkratky, které navíc nejsou ani objasněny v textu, např. pro TAE pufr, naopak jsou uvedeny běžně známé zkratky jako kap., konc., max., min., apod.,
- na mnohých místech se v českém textu vyskytují anglické výrazy, které mají ekvivalent i v českém jazyce,
- str. 61 - pod tvrzením, že "... kulturu bylo možné uchovávat při teplotě -80 °C v malém množství glycerolu v mikrozkuhavce", si lze představit různé objemy glycerolu. Jak uchazečka došla k tomu, že na tuhém živném médiu byly kultury uchovávány právě při teplotě 6,6 °C?,
- při centrifugaci jsou někdy parametry uváděny jako RPM, jindy pomocí hodnoty g,
- výsledková část - "PCR cyklus byl volen jako klasická (případně nested nebo touchdown) PCR" - nejedná se o PCR cyklus, ale o variantu nebo modifikaci této metody. PCR cyklus je jeden krok této metody,
- nesrozumitelná tvrzení, např. na str. 110 (uprostřed): "Důvodem byla nutnost kvalitního části templátové DNA (dle navržených primerů) o velikosti přibližně 1500 bp. Čehož nebylo často dosaženo a v rámci společné optimalizace lyze a PCR."

Závěrem je možné říci, že předložená diplomová práce Denisy Pavlíkové obsahuje množství vynaloženého úsilí. Její úroveň však poněkud snižují výše uvedené formální nedostatky, včetně jazykového zpracování. Vzhledem k tomu, že práce splňuje všechny požadavky kladené na diplomovou práci, doporučuji její obhajobu.

Otázky oponenta diplomové práce:

1. Na str. 60 uvádíte přípravu ředění (10-1) při izolaci bakterií za použití tweenu. Z textu však není zcela zřejmé, jestli byl postup proveden správně. Popište prosím podrobněji způsob přípravy tohoto ředění.
2. Objasněte prosím následující tvrzení uvedené na str. 65: "Enzym proteináza K dokáže štěpit peptidové vazby u aminokyselin ..."
3. Proč je při mnohých aplikacích vhodnější využívat metody touchdown PCR místo klasické PCR? Popište její princip a zdůvodněte, proč při touchdown PCR nevznikají dimery či nespecifické PCR produkty.

V Zlíně dne 5. 6. 2015

Podpis oponenta diplomové práce