



## OPONENTSKÝ POSUDOK

**Meno študentky:** Mgr. Jana Konečná

**Názov dizertačnej práce:** Probiotické geny potravinársky významných baktérií mliečného kvasení

Predkladaná dizertačná práca Mgr. Jany Konečnej sa zaoberá veľmi zaujímavou problematikou identifikácie probiotických génov u potravinársky významných baktérií mliečného kvasenia. O pozitívnom vplyve probiotík na ľudské zdravie niet pochýb a stále pribúdajú nové štúdie naznačujúce potrebu doplnkov stravy obsahujúcich práve probiotické kultúry. Z tohto hľadiska považujem zvolenú tému dizertačnej práce za vysoko aktuálnu.

Formálne členenie a rozsah predkladanej dizertačnej práce sú v súlade s požiadavkami pre dizertačné práce. Pripomienku mám k členeniu záverečnej časti Výsledky a diskuze, v ktorej sú až tri podkapitoly nazvané Závěr a diskuze, čo pôsobí trochu zmätočne a znižuje to čitateľnosť textu. Tiež postrádam samostatnú kapitolu Závěry, v ktorej by autorka v bodoch zhrnula hlavné prínosy práce. V prípade niektorých tabuliek (napr. str. 42, 68 a pod.) chýbajú niektoré časti, na čo by si študentka mala dať v budúcnosti pozor.

V Literárnom prehľade študentka formou rešerše sumarizuje aktuálny stav riešenej problematiky. Táto kapitola zahŕňa všetky podstatné aspekty, ktoré súvisia so študovanou problematikou a svedčí o dobrej orientácii študentky v študovanej problematike a potrebnom zvládnutí teoretického základu k zvolenej téme. Poznatky sú vhodne doplnené prehľadnými schémami a obrázkami.

Ciele práce sú formulované jasne. Hlavným cieľom bolo izolovať DNA a následne identifikovať kmene baktérií mliečného kvasenia. Na dosiahnutie tohto cieľa si autorka vytýčila niekoľko parciálnych cieľov. Podkapitoly Materiál a Metody informujú o analyzovaných vzorkách, ako aj použitých metodických postupoch, ktoré zahŕňajú moderné a adekvátne techniky molekulárnej biológie a sú na riešenie danej problematiky vhodne zvolené.

V kapitole Výsledky a diskuze, ktorá je pomerne rozsiahla (zaberá až polovicu práce), sa autorka snaží posúdiť dosiahnuté výsledky a interpretovať ich. V tejto časti by som ocenila aj porovnanie získaných výsledkov so zisteniami z iných štúdií/laboratórií.



**UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE**  
**PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA**

**Katedra genetiky**

Mlynská dolina B1, 842 15 Bratislava 4



K predkladanej práci mám nasledovné otázky:

1. Keďže postrádam samostatnú kapitolu Závery, prosím autorku o stručné zhrnutie dosiahnutých výsledkov (v niekoľkých bodoch).
2. Na Obr. 2 na str. 47 mi chýba legenda, v ktorej by bolo opísané, aké vzorky sa nachádzajú v dráhach 1-12. Prosím o jej doplnenie. Tiež by som rada vedela, ako ste určovali koncentráciu DNA uvedenú v tabuľke pod obrázkom. Z gélu vyplýva, že najviac DNA sa nachádza v dráhach 5-8 a najmenej v dráhach 1 a 12, no hodnoty v tabuľke ukazujú porovnateľné množstvá vo všetkých dráhach. Viete nejako vysvetliť túto diskrepanciu? Prečo ste sa do ďalších analýz rozhodli použiť fosfátový pufr s pH 7,6, keď pri pH 8,0 ste vo väčšine prípadov (aspoň podľa Tab. 10) získali lepšie výsledky?
3. Veta na str. 50 „Pozornosť bola zaměřená na přidání NaCl o výsledné koncentraci 0,2 M, 0,4 M (1M, 2M) a KCl 2mM (10mM) k TE pufru.“ je nezrozumiteľná. Prosím o vysvetlenie.
4. Na základe akých kritérií ste vybrali cieľové sekvencie pre amplifikáciu pomocou PCR? V Tab. 6, v ktorej sú uvedené sekvencie primerov, mi pri posledných 6 dvojiciach primerov chýba údaj, o aký gén ide a pre ktorý druh sú špecifické?
5. V tabuľke 16 na str. 54-55 je zaznamenaná intenzita produktu od + po +++, postrádam však údaj, na základe čoho bola intenzita hodnotená jedným až tromi +. Prosím o doplnenie.
6. V prípade analýzy génov pre probiotické vlastnosti sa Vám vo viacerých prípadoch nepodarilo prítomnosť daného génu dokázať? Myslíte si, že je to zvolením nesprávnych primerov alebo sa naozaj daný gén v baktériách nenachádza? Vedeli by ste navrhnúť iný spôsob identifikácie týchto génov?
7. Číselné označenie kriviek topenia je trochu neprehľadné, neuvažovali ste o rozlíšení jednotlivých kriviek na základe sfarbenia, t.j. v legende?
8. Aké iné metódy analýzy presného obsahu jednotlivých druhov baktérií mliečneho kvasenia existujú? Prečo ste sa rozhodli práve pre metódu HRM-PCR?

Záverom môžem skonštatovať, že predkladaná dizertačná práca Mgr. Jany Konečnej rieši aktuálnu problematiku. Doktorandka vytýčené ciele splnila. Na ich splnenie použila adekvátne a moderné metódy molekulárnej biológie. Dosiahnuté výsledky prispievajú k rozšíreniu poznatkov v študovanej problematike a majú aj potenciál praktického využitia v potravinárskom priemysle. Napriek horeuvedeným pripomienkam navrhujem, aby bola práca pripustená k obhajobe a po jej úspešnom obhájení bol Mgr. Jane Konečnej v zmysle § 47 ods. 4 zákona udelený akademický titul „*philosophiae doctor*“ (PhD).

V Bratislave, 15.11.2018

doc. RNDr. Andrea Ševčovičová, PhD.