

## Oponentský posudek

### Bc. Zdeňka Klusáčková: Průkaz genů kódujících vybrané faktory virulence u streptokoků se skupinovým antigenem G

Diplomantka Zdeňka Klusáčková se ve své práci zabývala optimalizací polymerázové řetězové reakce (PCR) pro průkaz genů kódujících vybrané faktory virulence u streptokoků se skupinovým antigenem G (GGS), a to konkrétně streptolysin S, streptokokový pyrogenní exotoxin G a streptokokový mitogenní endotoxin Z.

Diplomová práce je svým tématem aktuální, protože tato skupina streptokoků je stále častěji rozpoznávána jako původce infekčních onemocnění u lidí. Skupina GGS také vytváří velké množství faktorů virulence, které byly dosud uváděny jen u druhu *S. pyogenes* a které způsobují jejich vysokou invazivitu.

Mezi moderní diagnostické metody patří jistě i molekulárně biologické metody, konkrétně polymerázová řetězová reakce (PCR), která se vyznačuje vysokou citlivostí a specifikou. Z tohoto pohledu je zavedení PCR metody na vybrané faktory virulence přínosem.

Diplomová práce je členěna obvyklým způsobem, velmi podrobně a pečlivě je zpracována teoretická část, která obsahuje 123 citací. Výsledky jsou dokumentovány přehlednými tabulkami a obrázky a práce splňuje stanovené cíle zadání. O pečlivosti autorky svědčí i to, že se v práci nevyskytují překlepy a práce členěna velmi přehledně.

K diplomové práci bych měla tyto otázky a připomínky:

1. Proč byly vybrány zrovna tyto tři faktory virulence?
2. Při optimalizaci PCR metody u všech třech genů jste optimalizovali koncentraci  $Mg^{2+}$  iontů v reakční směsi. Proč jste zvolili zrovna rozsah 1 - 10 mmol/l, standardně se používá koncentrace 1,5 - 2,5 mmol/l, což jste také nakonec používali. Také myslím, že pro průběh reakce již nemá význam, zda je koncentrace 2,5 mmol/l (u genu *speG* a *smeZ*) nebo 2,75 mmol/l (u genu *SagA*). Škoda, že nikde není uvedený obrázek gelu, který by tyto reakce dokumentoval.
3. Ve všech třech výpočtech koncentrace DNA (str. 49, 51 a 54) pro stanovení meze detekce, jste použili vztah  $c(\text{dsDNA}) = A_{260}/0,02$ . Při samotném výpočtu však byla absorbance ještě násobena 10-ti. Můžete vysvětlit proč? V textu to není uvedeno.

Diplomová práce splňuje všechny požadované náležitosti a proto ji doporučuji k obhajobě. Práci hodnotím známkou: **v ý b o r n ě**.

V Pardubicích 21.5. 2009



RNDr. Dita Královcová, Ph.D.