

Posudek disertační práce Ing. Hany Pištěkové

Zpracoval: Prof. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.

Aplikace molekulárně biologických metod při detekci genů a degradaci vybraných mikrobiálních metabolitů v potravinách

Předložená disertační práce má klasickou strukturu.

Literární část má logické členění a zabývá se všemi aspekty problematiky biogenních aminů v potravinách, počínaje jejich vznikem a se zvláštním důrazem na možnosti jejich eliminace. Stěžejní kapitolou je popis a diskuze metod stanovení biogenních aminů a obzvláště souvisejících enzymových aktivit v potravinách. V této oblasti jsou velmi perspektivními molekulárně biologické metody, kterým se práce specificky věnuje.

Metodická část je poměrně krátká a použité metody jsou popsány poměrně stručně. Pro případnou replikaci experimentů by tedy případný pokračovatel musel hledat detaily v jiných zdrojích, případně by musel přesný postup odvodit sám. Domnívám se ale, že je tato forma popisu experimentů přípustná, protože v každém případě umožňuje sledovat výsledky experimentů vzhledem k použité metodice do dostatečných detailů.

Výsledková část je členěna do dvou logických částí.

První část se zabývá vývojem metodiky sledování exprese degradačních BA enzymů u modelových bakterií *B. subtilis* a *L. casei*. Prvním úkolem byl vývoj a testování vhodných primerů. Tato kapitola je poměrně rozsáhlá a obsahuje velké množství dat, přičemž je zřejmé, že skutečný objem práce byl ještě mnohem vyšší. Jedná se o pečlivou a systematickou práci, která zaslouží ocenění. Samostatným a velmi obtížným úkolem byla optimalizace navazující qPCR metody. Chtěl bych zdůraznit, že vývoj metodiky související s disertační prací měl i pozitivní vliv na metodické kompetence pracoviště. Dalším bodem vývoje metodiky byla optimalizace izolace RNA z potravin, kde se jako mimořádně problematické jeví sýry.

Druhá část práce logicky obsahuje aplikaci vyvinuté metodiky v experimentech s modelovými organismy v různých prostředích. Zde je patrné, že se studentka nedala odradit prvotními negativními výsledky a pokračovala ve svém snažení. Je zřejmé, že práce nedosáhla úplné eliminace biogenních aminů ve zkoumaných prostředích, ale je zde patrný, jak metodický tak experimentální směr, kterým by se další výzkum mohl ubírat.

Závěrem mohu konstatovat, že předloženou práci je možno doporučit k obhajobě a v případě úspěšné obhajoby a splnění dalších podmínek stanovených příslušnou institucí podporuji udělení titulu Ph.D.

Dovoluji si rovněž položit otázky a prosím o jejich stručné zodpovězení v průběhu obhajoby:

1. Můj dojem je, že qPCR metodika je stále poměrně pracná a metodicky komplikovaná. Máte prosím nějakou myšlenku, jak by bylo možno tuto metodiku zrychlit, zjednodušit, nebo učinit méně pracnou?
2. Jsou dostupné nějaké informace o tom, jak je exprese genu mco u *L. casei* fyziologicky regulována?

Ve Zlíně 24.8.2020

prof. Mgr. Marek Koutný, Ph.D.