

| Posudek oponenta na diplomovou práci |
|---|
| Jméno oponenta: Kamil Růžička |
| Datum: 8. 9. 2023 |
| Autor: Barbora Svobodová |
| Název práce: Role genu <i>AHL20</i> při iniciaci a prorůstání postranních kořenů. |
| <p>Cíle práce</p> <ul style="list-style-type: none"> · Provéřit lokalizaci a míru transkripce předem vytipovaných genů AHL v rámci kořenového systému se zaměřením na jejich účast při tvorbě postranních kořenů (LRs). · Lokalizovat expresi AHL20 v rámci pletiv kořene. · Vytvořit linie huseníčku (<i>Arabidopsis thaliana</i>) s vyřazenou transkripcí AHL20. · Ověřit množství transkriptu AHL20 v kořenech rostlin při modulaci exprese. · Změřit rozdíl v makroskopických a mikroskopických parametrech (fenotypování) kořenového systému rostlin s overexpresí a knockout mutanta AHL20 vůči původnímu genotypu (WT). · V diskusi rozebrat možný vliv genu AHL20 na fenotyp kořenového systému (se zaměřením na iniciaci a prorůstání LRů). <p>(zkopírováno z DP)</p> |
| <p>Struktura (členění) práce</p> <p>Rozsah práce (počet stran): 76</p> <p>Je uveden anglický i český abstrakt a klíčová slova? ANO</p> |
| <p>Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, seznam literatury)</p> <p>Vizuálně je práce vyvedena pěkně, obrázky mají kvalitní rozlišení, literatura je bohatě a zpravidla správně citována (v Úvodu však jakýkoli odkaz na literaturu chybí). Nedostatky spojené s „obvyklým finišem“ nejsou kritické.</p> |
| <p>Logická stavba a jazyková úroveň práce</p> <p>S potěšením jsem nabyl dojmu, že se autorka v problematice orientuje. Text je svou strukturou dobře logicky uspořádan, tedy kromě Diskuze a části Výsledků, kde přehlednost a srozumitelnost mírně upadá. Jazykový styl je méně vhodný, je zřetelně zasazen běžnou mluvou a laboratorním slangem. Jako další nepěkný zlozvyk považuji také směšování úrovně genu, transkriptu a proteinu (např. „typickou vlastností AHL genů je přítomnost AT-hook motivu“). Častá byla také formální nešikovnost či nesmyslnost mnohých tvrzení. Názvy genů by měly být psány kurzívou; to se zde neděje. Text je prost překlepů a gramaticky je na dobré úrovni, v menší míře absentují čárky ohraničující vedlejší věty či je nekonzistentně dodržován pravopis některých přejatých slov.</p> |
| <p>Literární přehled:</p> <p>Odpovídá tématu a je logicky členěn?</p> <p>Je napsán srozumitelně?</p> <p>Jsou použité literární zdroje dostatečné, relevantní a aktuální?</p> <p>Jsou literární zdroje (včetně obrázků) v práci správně citovány?</p> |

Literární přehled se koherentně skládá z části věnující se (1) některým aspektům vývoje laterálních kořenů (LR) a (2) shrnutí poznatků o proteinech AHL. Je vystaven na dobře uspořádané logické struktuře, která odpovídá zkoumané problematice. Samotný obsah jednotlivých sekcí však postrádá promyšlený systém. Je zde až příliš velký důraz kladen na komplikované molekulární modely, s nepřehledným množstvím proteinových faktorů, které se zkoumanými geny či vlastní prací nemají bližší souvislost. Odkazy na použité obrázky v textu prakticky bez výjimky chybí.

V části věnující se LR jsem postrádal přehledný popis formování primordií v *Arabidopsis* (Malamy a Benfey, 1997). To je důležité, protože se autorka na dané členění stádií později často odvolává; zde je to vyřešeno pouze sotva dostačujícím Obr. 1, a to bez bližšího komentáře. U charakterizace proteinové rodiny AHL by čtenář uvítal kladogram jednotlivých zástupců v *Arabidopsis* či alespoň tabulku jejich rozčlenění do jednotlivých tříd (skupin). Jako kritickou nicméně shledávám absenci kritérií, na základě kterých byly diskutované geny *AHL* vybrány, a taktéž jasnou formulaci hypotézy, proč by se tyto geny měly podílet na vývoji LR.

Materiál a metody:

Šíře použitých metodik.

Odpovídají popsané metody prezentovaným výsledkům?

Jsou metody srozumitelně popsány?

Materiál a metody jsou popsány do velké šíře a korespondují s Výsledky. Některé metody jsou popsány stručně (avšak dostatečně), některé zabíhají do přílišných technických detailů (bez pozitivního efektu na srozumitelnost textu). Některá schémata nejsou příliš srozumitelná (Obr. 9). Pro konstrukty vybraných genů AHL chybí reference či bližší popis, kde byly získány (nebo kdo je vytvořil).

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů?

Je dokumentace výsledků adekvátní?

Je množství provedených experimentů dostačující?

Množství provedené práce a vykonaných experimentů je adekvátní dobrému standardu tuzemské diplomové práce. S prezentací výsledků jsem však vždy spokojen nebyl. Největší problém mám se sekcí 4.3. Proč byl proveden experiment na médiu bez/se sacharózou? Vysvětlení je podáno až později v textu a vyznívá tautologicky. Neporozuměl jsem tak příliš experimentální myšlence a účelu hledání vzájemné vazby množství fenotypů postranních kořenů mezi overexpresory AHL20-GFP a sacharózou v médiu. Komplexita výsledků uvedených na str. 48-53 pak přesahuje chápání běžného čtenáře. Nemohu tedy ani posoudit, zda toto úsilí bylo smysluplné.

K některým obrázkům a grafům opět chybí odkazy v textu. Popisky Grafů 2 a 4 až 6, i Obr. 20 nejsou dostačující. V Grafech 2 (a možná 4 až 6) nejsou přítomny chybové úsečky. V Grafu 1 chybí jednotka průměrné absolutní koncentrace. Obr. 18 je nekvalitní a nelze z něj usoudit, zda koresponduje tvrzením uvedeným v textu. Na Obr. 22 se nachází gel, který doprovází jen slovní popis v textu, chybí např. schéma nasedání primerů a čtenář tak musí pouze věřit, že k vygenerování dvojitého mutanta skutečně došlo.

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků?

Jsou výsledky porovnávány s literaturou?

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky?

V Diskuze je rozsáhlá, cituje množství literatury a obsahuje řadu myšlenek. Ty jsou však neuspořádané a stáčí se ponejvíce okolo spekulací ohledně funkce genu AHL20 (či jeho overexprese) a jeho vlivu na funkci meristému v daných experimentálních podmínkách - pokud jsem směr úvah pochopil správně. Zde lze jen konstatovat, že mírou kvality vědecké práce není jen odvaha popustit stavidla fantazii, ale také vyselektovat ty myšlenky, které mají v daném kontextu smysl, a dát jim jistý řád.

Závěry (Souhrn):

Jsou závěry podloženy výsledky?

Jsou výstižně formulovány?

Závěr vystihuje popsaná pozorování.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Cílů bylo technicky dosaženo. Zbývá se zamyslet, zda by cíle měly být pouze soubor *ad hoc* experimentů nebo se pokusit je zasadit do rámce byť úzkého biologického tématu.

Celkově lze shrnout, že práce se zdá být napsána vnímavou osobností se schopností proniknout do dané problematiky, a která si úspěšně osvojila velké množství molekulárně-biologických technik. To odpovídá adekvátní kvantitě prezentovaných biologických dat. Mezi vadami vyčnívá horší formální vyvedení. To se odráží v nesrozumitelné interpretaci velké části výsledků, neuspořádané Diskuzi, nedostatečnými náležitostmi obrázků a grafů, a také v nižší jazykové úrovni práce.

Otázky a připomínky oponenta (povinná část posudku):

Jaká byla biologická otázka při analýze fenotypů v souvislosti s overexpresory AHL20? Lze to brát jako přesvědčivý důkaz role tohoto genu při formování RSA? Roli sacharózy zde raději pominu.

Co značí „silný regulátor transkripce na různých úrovních“ (o faktorech AHL) a co znamenají tyto různé úrovně (abstrakt a str. 14)?

Jak si je autorka jista pletivově-specifickou aktivitou promotorů genů (pericykl, endodermis, oblast xylému apod.), nebyla-li provedena analýza příčných řezů?

Tabulka 23. Nebylo by lepší zohlednit i např. pletivově-specifickou expresi v LR (koř. čepička, stéle) vedle stádia LRP?

str. 36: Aktivita promotoru (AHL19::*GUS*) je zjednodušeně popsána jako transkripce AHL19. Která metoda by přesně korespondovala s daným tvrzením?

str. 25: „Pro kvantitativní analýzu vzorku (např. míru exprese genu) se používá

qPCR.“ Může tedy autorka uvést případ, kdy se qPCR (zde RT-qPCR) používá pro něco jiného než pro stanovení míry exprese genu?

(nepovinné) Jak dál? Můžete nastínit možné cesty pokračování projektu?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně (1) velmi dobře (2) dobře (3) nevyhověl/a (4)

Podpis oponenta:

Pozn. Obvyklá délka standardního posudku je cca 2-3 strany.

Instrukce pro vypracování a odevzdání posudku-po dokončení posudku možno tyto instrukce smazat:

- Pro vypracování posudku diplomové práce použijte tento formulář, text standardním písmem slouží jako vodítko
- Posudek můžete sami vložit do SIS, anebo s předstihem zaslat v elektronické podobě na adresu: hana.konradova@natur.cuni.cz, a dále zajistit dodání podepsaného originálu (v 1 výtisku, jako součást protokolu o obhajobě) na sekretariát Katedry experimentální biologie rostlin PřF UK (p. Adéla Špinová), Viničná 5, 128 00 Praha 2. Podepsaný originál posudku s navrženou klasifikací musí být dodán před vlastní obhajobou, bez něho nesmí být obhajoba zahájena!