

Posudek diplomové práce Bc. Aloise A. Hilgerta Delgada "Function of TTL gene family and their effect on lateral roots formation in Arabidopsis."

Předložená práce shrnuje výsledky experimentálního projektu, jehož **cílem** – jak autor v příslušné pasáži brilantně shrnuje – bylo zaklonovat do vhodného „reportérského“ vektoru promotory čtyř paralogních genů z rodiny TTL, připravit transgenní rostliny Arabidopsis a provést jejich počáteční charakterizaci. To se autorovi (s drobným zádrhelem u genu TTL1, kde bylo transformaci nutno opakovat, takže její produkty nebyly do odevzdání vyhodnoceny) víceméně podařilo. Kromě odevzdaného spisu je výstupem práce i nepochybně cenný experimentální materiál, jehož další studium na školitelském pracovišti jistě přispěje k pochopení úlohy těchto genů v životě rostliny, zejména pak v zakládání postranních kořenů.

O něco méně se však autorovi dařilo vlastní sepisování, takže práce, která se drží při horní hranici obvyklého rozsahu (113 stran včetně příloh, bez obsahu a abstraktu) a je standardně členěna, působí místy poněkud nezaostřeným dojmem.

Poměrně velký prostor (30 stran) v práci zaujímá **literární přehled**, který pokrývá široké pole témat od anatomie a ontogeneze kořenů přes obecné aspekty funkce proteinů rodiny redoxinů až po přehled současných znalostí o rostlinných proteinech obsahujících doménu TPR. Ne všechna diskutovaná témata však jsou relevantní – není mi např. jasné, proč bylo tolik prostoru věnováno glutaredoxinům, s nimiž je studovaný protein příbuzný jen vzdáleně a patrně s nimi vzhledem k mutacím konzervované sekvence ani nesdílí biochemickou funkci. Text působí místy poněkud chaoticky, k čemuž přispívá i autorův iritující zvyk definovat zkratky až poté, co je již nějakou dobu používal (např. RSA – root system architecture – je poprvé použita na s. 15, definována na s. 17; zkratka Prx, použitá na s. 25, je definována na s. 28). Na srozumitelnosti zde nepřidává neobvyklé umístění seznamu zkratek ke konci (ne však na konci!) práce, ani skutečnost, že autor sice literární úvod doprovází řadou (převzatých) obrázků, avšak většinou na tyto ilustrace z textu vůbec neodkazuje.

K této části mám několik konkrétních připomínek či dotazů:

- Nadpis kapitoly 3.2.1.1. postrádá smysl – v překladu „Redoxní je nezbytný v rostlinné biologii.“ Není jasné, co redoxního. (Dále si dovoluji pochybovat o autorově tvrzení – i kdyby rostliny zakládaly některé životní procesy na jiných principech, než jsou redoxní děje, rostlinná biologie, tedy nauka o životních pochodech rostlin, by se s tím nepochybně vyrovnala. To, že i vážení a zavedení vědci někdy míchají dohromady obor a jeho předmět, je sice pro diplomanta polehčující okolností, mlčet by se však o tomto nešvaru nemělo.)
- Na s.24 je výjimečně odkazováno na obrázek, chybí však jeho číslo.
- Lze o pH pod 8 hovořit jako o „nízkém“ (s. 27)? Tradičně se za nízké považuje spíše pH v kyselé oblasti pod 7.
- Velká část kapitoly 3.2.2.2., která je podkapitolou oddílu věnovaného explicitně rostlinným TPR proteinům, se zabývá proteinem YbgF. Z jakého organismu tento protein pochází?

Část věnovaná **materiálu a metodám** popisuje použité metodiky, a to velmi detailně, většinou formou dobře použitelných návodů. Podrobný seznam používaných větších přístrojů včetně údajů o

výrobcích je dle mého názoru snad až zbytečný; pokud však autor chce být takto detailní, měl by výrobce uvádět i u chemikálií, zejména tam, kde lze předpokládat variabilní složení (např. agar, pepton, trypton, kvasničný extrakt a podobně). Podkapitoly 4.4.11-4.4.13, které popisují nikoli obecnou metodiku, ale konkrétní postup přípravy jednotlivých konstruktů, by bývaly byly patřily spíše do části Výsledky.

K této části mám několik drobných dotazů:

- Byly kultury agrobakteria s plasmidy pěstovány s antibiotiky (s. 38)?
- Není v tab. XII v množství vody chyba? (Nebylo to 30 ml?)
- Co je „4% bleach“ na s. 57? Jak byl tento roztok připravován?

Výsledky jsou zpracovány stručně a celkem přehledně, jen místo obrázků primárních sekvenovacích chromatogramů by bývalo bylo vhodnější zařadit přiřazení (alignments) získaných sekvencí k anotovaným mapám/sekvencím lokusů. Ty jsou sice zařazeny v dodatku, ale bez komentáře k významu barevného zvýraznění moc k užítku nejsou.

Diskuse je zaměřena především na literární údaje, méně již na vlastní výsledky, což je škoda, protože bylo co diskutovat. Zejména postrádám podrobnější a konkrétnější porovnání vlastních pozorování exprese reportérských genů ve zkonstruovaných transgenních liniích s údaji z mikroarrayů dostupnými např. prostřednictvím eFP browseru nebo databáze Genevestigator. Autorovy experimenty tato zveřejněná data mnohdy dobře potvrzují či doplňují (např. u téměř úplné absence exprese TTL2 ve vegetativních orgánech – dle mikroarrayů je tento gen pylově specifický). Doufám, že toto téma bude podrobněji pojednáno v presentaci u obhajoby. S tím také souvisí otázka:

- Byly či budou u transgenních rostlin sledovány i generativní orgány (a případně s jakým výsledkem)?

Obsáhlý **seznam literatury** je standardně formátován; namátková kontrola neodhalila chybějící či nespárované citace, avšak formální úprava některých citací v textu je nestandardní (iniciály u jmen autorů – např. s. 11).

Po **formální stránce** práce působí úhledně, mírným handicapem je skutečnost, že text je sepsán anglicky, a čtenáře přivyklé spíše zlovykům pisatelů, jejichž mateřským jazykem je čeština, mohou některé obraty, patrně ovlivněné španělštinou, překvapit či iritovat. Záměrně tento aspekt nehodnotím, abych pisatele neznevýhodnila oproti českým kolegům. Nemohu si však odpustit poznámku, že místy textu nebylo moc dobře rozumět (např. s. 5, 2. věta kap. 3.1.1.; s. 12, poslední odstavec; s. 18, první odstavec, kde si autor zřejmě plete „event“ a „even“). Pro sekundy by měla být používána standardní zkratka sec., nikoli seg. (s. 42).

Navzdory uvedeným výhradám považuji práci zejména s ohledem na experimentální výsledky za kvalitní, a po úspěšné obhajobě doporučuji její přijetí. Na základě odevzdaného textu navrhuji hodnocení známkou **velmi dobrou**.

V Praze dne 5.9.2011

F. Cvrčková