

## Posudek oponenta na diplomovou práci

Jméno oponenta: Tomáš Moravec

Datum: 4/9/15

**Autor:** Adéla Příbylová

**Název práce:** Vliv způsobu indukce RNA interference na umlčování reportérového genu pro GFP u *A. thaliana*

### Cíle práce:

- 1) tvorba plasmidů pro transformaci *A. thaliana* nesoucích gen GFP pod konstitutivním promotorem spolu s jedním ze 4 umlčujících konstruktů
- 2) Transformace *A. thaliana* těmito konstrukty
- 3) Indukce exprese umlčujících konstruktů v T2 generaci, vyhodnocení průběhu umlčování GFP a vzájemné porovnání jednotlivých variant.

### Struktura (členění) práce

Rozsah práce (počet stran): 81 stran textu+11 stran referencí+12 obrazových stran příloh  
Je uveden anglický i český abstrakt a klíčová slova? Ano, vše v pořádku

### Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, seznam literatury)

Ano, práce je zpracována přehledně, seznam literatury odpovídá zvyklostem, grafické přílohy jsou přehledné.

### Logická stavba a jazyková úroveň práce

Velmi dobrá,

### Literární přehled:

Odpovídá tématu a je logicky členěn? ano

Je napsán srozumitelně? Ano

Jsou použité literární zdroje dostatečné, relevantní a aktuální? Ano, ano ano

Jsou literární zdroje (včetně obrázků) v práci správně citovány? Ano

### Materiál a metody:

Šíře použitých metodik. Odpovídá tématu, podstatná část je věnována tvorbě genových konstruktů

Odpovídají popsané metody prezentovaným výsledkům? Ano

Jsou metody srozumitelně popsány? ano

### Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? Ano

Je dokumentace výsledků adekvátní? Ano  
Je množství provedených experimentů dostačující? Ano

#### **Diskuze:**

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? Výsledky dosažené diplomantkou byly oproti původnímu záměru překvapivé. Studentka se zhostila diskuse dobře a poměrně solidně tyto rozdíly odůvodnila, včetně testovatelných hypotéz pro další experimentální práci.

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ano

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky?

#### **Závěry (Souhrn):**

Jsou závěry podloženy výsledky? Ano

Jsou výstižně formulovány? Ano

#### **Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

**Studentka cíle práce splnila, přestože během experimentování narazila na mnohá úskalí a překážky, zejména na citlivost systému i na nepatrné hodnoty background exprese RNAi konstruktů. Práci celkově považuji za velmi zdařilou.**

#### **Otázky a připomínky oponenta:**

Přestože celkově považuji práci za velmi zdařilou, mám k textu následující dotazy / připomínky:

Str 44: výsev transformovaných E.coli – skutečně studentka aplikovala 950 ul bakteriální kultury přímo na petriho misku s LB médiem?

Str 45: výraz „igelitový pytel“ je poněkud slangový a navíc nepřesný. Je velmi málo pravděpodobné, že šlo o sáček z měkčeného PVC, spíše bych použil výrazu „plastový sáček“

Str 49 – studentka popisuje přidávání barviva GelRed přímo do gelu. Zajímalo by mne, zda někdy pozorovala rozmazání bandů v takto připraveném gelu. V našich rukách jsme toto barvivo byli nuceni používat pouze pro barvení až po elektroforetickém rozdělení.

Str 51. – studentka popisuje měření koncentrace DNA na nanodropu pomocí vestavěného programu. Zajímalo by mne jak takové měření probíhá, při jakých vlnových délkách přístroj hodnoty odečítá a zda je možné případně detekovat kontaminaci proteiny nebo RNA.

Str 53: Studentka popisuje řádové zvýšení účinnosti elektroporace po zamražení DNA. Zajímalo by mne jaké je pro tento fenomén vysvětlení a případně zda existuje reference.

Str 64: rostliny rGFP od V. Čermáka netvořily listy – šlo o známý nebo o předtím nepozorovaný fenotyp?

Str 66. a dále – velmi často se zde vyskytuje obrat „GFP svítí/nesvítí“, který je dle mého zavádějící a nepřesný, přestože se v laboratorním žargonu často používá. V případě GFP nejde o luminiscenci ale fluorescenci

Str 69- obrázek 4.3 GFP fluorescence v rostlinách s indukovatelným promotorem klesá výrazně rychleji než u rostlin s konstitutivní expresí. Je pro to nějaké vysvětlení?

**Návrh hodnocení oponenta** (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta: