

Posudek oponenta na diplomovou práci

Jméno oponenta: RNDr. Edita Tylová Ph.D

Datum: 25. 8. 2017

Autor: Bc. Eliška Kobercová

Název práce:

Indukovaná RNAi proti esenciálním genům metabolismu dusíku jako nástroj pro kontrolu GM plodin

Cíle práce

Pokusit se pomocí indukované RNA interference proti *Fd-GOGAT1* usmrtit rostliny modelového druhu *Arabidopsis thaliana* a ověřit tak potenciální využitelnost této metody pro kontrolu GM plodin. Charakterizovat úlohu plastidové GS2 a její zastupitelnost cytosolickými isoformami.

Struktura (členění) práce

Rozsah práce (počet stran): Práce má 93 stran a je členěna standardním způsobem. Je uveden anglický i český abstrakt a klíčová slova? Ano.

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

Práce je na velmi vysoké formální úrovni. Je přehledná, napsaná srozumitelně a pro čtenáře přívětivým, čtivým způsobem. Obrazová dokumentace je přiměřená, obrázky mají odkazy v textu. Práce obsahuje minimum formálních nedostatků. Četla jsem ji velmi pečlivě, než jsem našla alespoň chybějící název grafu F v popisku obr. 4.24 nebo chybějící informace o použitém statistickém testu v popisku obr. 4.26. Grafy 4.24 C-F by bylo vhodné zmínit jednotlivě v textu výsledkové části (na str. 65), což by usnadnilo orientaci. Osobně bych se také vyhnula používání termínu „čerstvina“ pro označení čerstvé hmotnosti.

Logická stavba a jazyková úroveň práce

Jazyková úroveň práce je velmi dobrá.

Literární přehled:

Odpovídá tématu a je logicky členěn? Ano.

Je napsán srozumitelně? Ano.

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

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

Materiál a metody:

Šíře použitých metodik: Spektrum použitých technik je úctyhodně velké, zahrnuje pokročilé molekulárně-biologické metody, kultivaci rostlin v různých podmínkách nebo měření fotosyntetických parametrů.

Odpovídají popsané metody prezentovaným výsledkům? Ano.

Jsou metody srozumitelně popsány? Ano. Kapitola Metodika zabírá 24 stran a použité metody popisuje opravdu pečlivě.

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? Ano.

<p>Je dokumentace výsledků adekvátní? Ano. U některých grafů by možná bylo vhodné pro lepší představu doplnit informaci o stáří rostlin v době odběru (délce kultivace).</p> <p>Je množství provedených experimentů dostačující? Určitě ano.</p>
<p>Diskuze:</p> <p>Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? Ano.</p> <p>Jsou výsledky porovnávány s literaturou? Ano.</p> <p>Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? Ano. Navíc je ze závěru diskuze patrné, že jsou tyto návrhy již dokonce aktivně realizovány (cílená mutagenese <i>GS2</i> pomocí CRISP/CAS9).</p>
<p>Závěry (Souhrn):</p> <p>Jsou závěry podložené výsledky? Ano.</p> <p>Jsou výstižně formulovány? Ano.</p>
<p>Splnění cílů práce a celkové hodnocení:</p> <p>Diplomová práce dle mého názoru splnila cíle, které byly stanoveny. Z hlediska formální úrovně, rozsahu, množství provedených experimentů zcela jistě splňuje požadavky kladené na diplomové práce. Je evidentní, že je výsledkem pilné, usilovné a pečlivé experimentální práce a také odhodlání nenechat se odradit neúspěchy. Například experimenty s estradiolovým indukčním systémem jistě nebyly procházkou růžovou zahradou. Velmi oceňuji celkovou kvalitu práce a navrhuji hodnocení výborně.</p>
<p>Otázky a připomínky oponenta (povinná část posudku):</p> <p>První otázka se týká výsledků qRT-PCR uvedených na obr. 4.8 (analýza transkriptu <i>GOGAT</i> u umlčujících linií), které rozhodně nevyšly v souladu s očekáváním. V textu je zmíněna potřeba opakování analýzy v jiném čase odběru. Jaký časový průběh exprese na mediu s estradiolem bychom tedy mohli předpokládat? Jaká je stabilita estradiolu v agarovém mediu?</p> <p>Byla u qRT-PCR prováděna biologická opakování? Nemohou místy rozporuplné výsledky této metody souviset s tím, že byl analyzován jen jeden vzorek (pokud tomu tak bylo)?</p> <p>Lze z porovnání výsledků qRT-PCR1 a qRT-PCR2 říci něco o reakci wt rostliny na rozdílné kultivační podmínky z hlediska exprese <i>GS2</i>? Je exprese <i>GS2</i> stimulována v podmínkách navozujících vyšší míru fotorespirace?</p> <p>Ve výsledkové části jsou v textu poměrně málo popsány výsledky pro linii <i>gln1;1_IR-1</i> kombinující defekt v plastidové a cytosolické isoformě <i>GS</i>. Např. není diskutován její růst ve srovnání s wt (viz graf 4.26). Překvapilo mne, že roste srovnatelně (skoro lépe) jako wt, přestože dle qRT-PCR má hladinu <i>GS2</i> dokonce nižší než linie <i>gs2-3</i> s velmi špatným růstem. Existuje nějaká hypotéza, proč tomu tak je? A je možno to takto vůbec porovnat? Které linii vlastně wt v grafu 4.26 i ostatních grafech odpovídá?</p>
<p>Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> výborně <input type="checkbox"/> velmi dobře <input type="checkbox"/> dobře <input type="checkbox"/> nevyhověl(a)</p>
<p>Podpis oponenta:</p>