

Posudek oponenta bakalářské práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: Daniel Kroupa

Název práce: Vektory odvozené od viru mozaiky tabáku a jejich použití pro expresi proteinů v rostlinách

A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce (označte právě jednu z možností)

1. Rozsah BP a její členění	
	A - přiměřené, odpovídají charakteru BP a významu jednotlivých částí
	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
X	N - nedostatečné

2. Odborná správnost	
	A - výborná, bez závažnějších připomínek
	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
	C - uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami
X	N - nevyhovující, s hrubými chybami

3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů	
	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
	B - uspokojivé, s občasnými neobratnostmi zejm. v umístění odkazů, nebo s celkově nižším počtem citací
X	C - s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, přednášky, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat
	N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)

4. Jazyk práce	
	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
X	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
	C - uspokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

5. Formální a grafická úroveň práce	
	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
X	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo četnějšími drobnými chybami
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5.:

(obvyklá délka standardního oponentského posudku je cca 2 strany)

1. V práci nejsou vůbec formulovány její cíle, což značně ztěžuje orientaci v textu, který působí jako soubor vzájemně nesouvisejících tematicky různorodých kapitol, z nichž některé ani nemají nadpis. Autor chaoticky těká od tématu k tématu. Práci uvádí fragment klasifikace a popisu životních cyklů rostlinných virů (aniž by si autor zřejmě byl vědom, že jde o fragment – viz bod 2). Následuje poměrně solidní výklad o viru TMV a po něm nezdůvodněný skok k různým rostlinným expresním systémům, aniž by byl shrnut smysl jejich používání. Zato je do kapitoly o expresních systémech na s. 9 bez nadpisu a jakéhokoli uvedení vložena obsáhlá, věcně irelevantní pasáž o vztahu veřejnosti ke GMO a o metodách přípravy stabilně a transientně transformovaných rostlin. Následuje vlastní – opět celkem solidní – výklad o vektorech odvozených virů obecně a od TMV zvláště a o jejich možných aplikacích. Do něho je však zcela bez souvislostí vložena pasáž o klonovací metodě Golden Gate, jejíž relevance již byla zpochybněna při předchozím neúspěšném pokusu o obhajobu. Souvislost s tematikou práce zůstává nejasná i v této verzi, protože autor pouze zmiňuje jeden případ využití této techniky při přípravě savčích virových vektorů.

Nejasnost cílů a nelogická stavba textu byla autorovi již vytýkána při předchozím pokusu o obhajobu a byla jedním z rozhodujících důvodů, proč tento pokus zůstal neúspěšný, proto přetrvávání problému považuji za vážný nedostatek.

V závěru (s. 16) autor odkazuje na předchozí pasáž o jedlých vakcínách, v textu jsou však jen velmi stručně zmíněna „jedlá farmaceutika“ na s. 9 s odkazem na citaci z r. 2003 (která o vakcínách je).

2. Autor zjevně nepochopil, co mají společného a v čem se naopak liší „klasické“ dsDNA viry a pararetroviry. Na s. 1 tvrdí, že „*dsDNA viry se u vyšších rostlin nevyskytují*“, (což snad může být pravda v případě „klasických“ dsDNA virů s životním cyklem založeným na standardní replikaci dvouvláknové DNA), avšak dále na s. 2 konstatuje, že „*dsDNA viry vytvářejí v jádře minichromozomy, ze kterých je transkribována RNA. Ta se transportuje do cytoplasmy nebo je pomocí reverzní transkripce přepsána na dsDNA.*“ Reverzní transkripce v tomto uspořádání ovšem je klíčovou částí životního cyklu pararetrovirů, které se u vyšších rostlin vyskytují a jsou mimořádně významné i biotechnologicky. Vzhledem k virologickému zaměření práce toto pokládám za zásadní věcný nedostatek – zejména s přihlédnutím ke skutečnosti, že na toto téma již proběhla diskuse při neúspěšném prvním pokusu o obhajobu práce.¹

V pasáži o přípravě transgenních rostlin (s. 10) je zcela opomenuta možnost přípravy transgenních rostlin metodami, které nevyžadují tkáňovou kulturu (např. „floral dip“, dobře zavedený u *Arabidopsis*).

3. Je citováno celkem 79 literárních zdrojů, počet zajisté pro bakalářskou práci více než dostatečný. Pouze 23 citací je však mladších 10 let, a jen 15 je mladších 5 let (z toho nejméně 8 jsou přehledové články, knihy a kapitoly v knihách či firemní materiály online, tedy nikoli primární literatura). Jelikož nejde o historickou studii, práce by měla podat obraz o aktuálním stavu poznání, a zanedbání čerstvější primární literatury pokládám za vážný nedostatek (vzhledem k výše uvedené nejasnosti v zadání nevím, zda studentův či školitelův).

V seznamu literatury jsou některé citace nekompletní či nepřesné (např. Alard 1914, - neúplný název časopisu, Bagley et al – není jasné, že jde o magisterskou diplomovou práci, Carstens et al – chybí informace o vydavatel, Fraenkel-Conrat 1956 – chybí poslední strana, Garcia et al 2014 – chybí část titulu článku a číslo časopisu, Garabagi et al 2012 – duplikována část citace

¹ Při prvním pokusu o obhajobu byly položeny, avšak nikoli uspokojivě zodpovězeny, mimo jiné tyto otázky s bezprostředním vztahem k naznačenému problému:

„V práci píšete, že virové genomy jsou tvořeny různými typy nukleových kyselin, můžete mi říci, co znamená v práci uvedené dsDNA(RT)?“

„Víte z jakého systému pochází nejběžněji používaný promotor 35S?“

...dál jsem nekontrolovala).

- Některé důležité údaje či tvrzení navíc nejsou citačně podloženy (např. úloha floemu v šíření virů a častá absence virů v apikálním meristému – s. 2, „elektronmikroskopická vizualizace tělísek z virionů TMV – s. 3, „závod na zpracování infikovaného tabáku v Kentucky“ – s. 14),
4. V práci místy lze nalézt neobratné formulace či kostrbaté věty, ale nikoli v míře, kterou by bylo lze pokládat za fatální (problém je jinde). Mírně iritující je občasné používání angličtiny bez českého ekvivalentu tam, kde to není třeba, tj. pro předměty, které mají standardní český název (např. „lock washer“) nebo v případě překladu Beijerinckova původně německy publikovaného popisu infekčního agens. Najde se i hybridní česko-anglický termín („Molekular farming“, správně asi mělo být „molecular pharming“ s pěknou slovní hříčkou) .
 5. Citace v textu jsou nejednotně a nestandardně formátovány (např. uvádění jmen některých autorů včetně iniciál, plné seznamy autorů místo 1. autora *et al.*, závorky s citacemi někdy vložené mezi věty textu místo dovnitř vět). V rámci seznamu literatury je formát citací rovněž nejednotný (srv. např. po sobě jdoucí citace Gleba 2007 a Gleba et al. 2004). Připomínám, že formální nedostatky v citacích byly již shledány i v neúspěšně obhájené předchozí verzi práce.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě (povinná část posudku)

Je nutné, aby již v prezentaci při obhajobě uchazeč shrnul, co bylo cílem práce, a jak vzájemně souvisí jednotlivé diskutované problematiky. V diskusi pak požadují odpověď na následující otázky:

Co mají společného a jak se liší klasické dsDNA viry a pararetroviry, a jak je to s jejich výskytem u rostlin?

Z jakého (virového) systému pochází běžně používaný promotor 35S, a jak probíhá životní cyklus zdrojového viru?

Co znamená anglický výraz „lock washer“?

K čemu se může využívat exprese cizorodých proteinů v rostlinách či rostlinných buňkách? Lze si představit i aplikace, v nichž by případně nemusela vadit přítomnost látek či modifikací toxických či alergenních pro člověka nebo absence modifikací typických pro živočichy?

K čemu se používá rekombinantní bovinní trypsin produkovaný v kukuřici (s. 9)?

Jak se od poslední citované práce (z r. 2003 – viz s. 9) vyvinula problematika jedlých vakcín? Je tato oblast výzkumu pokládána za perspektivní i v současnosti?

V čem spočívají specifika procesu „magnifekce“, popsáno na s. 14 a vysvětleného pouze málo informativní obecnou ilustrací?

Byla metoda Golden Gate už někdy využita k přípravě rostlinných vektorů? Pokud ne, proč ji autor považuje za natolik relevantní, že jí věnoval zvláštní kapitolu, na rozdíl např. od klasického klonování pomocí restričních míst nebo techniky Gateway?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **JE** NENÍ (zakroužkujte) podmínkou přijetí práce

Je nezbytné, aby student uvedl na pravou míru hrubé chyby v klasifikaci virů popsané výše v bodě 2. Toto může uskutečnit např.

- 1) tím, že na s. 1 v 1. odstavci za větu „*dsDNA viry se u vyšších rostlin nevyskytují, jen u jednobuněčných řas.*“ vloží větu konstatující, že u vyšších rostlin jsou známy pararetroviry, jejichž virové částice obsahují dsDNA, která se množí procesem zahrnujícím reverzní transkripci.
- 2) náhradou termínu „*dsDNA viry*“ slovem „*pararetroviry*“ ve 3. odstavci kapitoly „Množení viru a šíření v rostlině“ na s. 2.

C. Celkový návrh

Práci **doporučuji** k přijetí k dalšímu řízení: **ANO** / NE

Navrhovaná celková klasifikace

V případě úspěšného průběhu obhajoby včetně uspokojivé odpovědi na veškeré otázky **dobře**, jinak **neprospěl**.

Datum vypracování posudku: 28.8.2017

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): Fatima Cvrčková

Instrukce pro vypracování a odevzdání posudku:

- Pro vypracování posudku bakalářské práce použijte tento formulář.
- Posudek můžete sami vložit do SIS, anebo s předstihem zaslat v elektronické podobě na adresu: hana.konradova@natur.cuni.cz a lipavska@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. Elena Kozlová), Viničná 5, 128 44 Praha 2. Podepsaný originál posudku musí být dodán před vlastní obhajobou, bez něho nesmí být obhajoba zahájena!