

Posudek oponenta na diplomovou práci

Jméno oponenta:

Mgr. Matouš Glanc, PhD

Datum:

22.6.2020

Autor:

Bc. Monika Kubalová

Název práce:

Dynamics and role of the Arabidopsis thaliana IAA17/AXR3 protein in regulation of root growth by auxin

Cíle práce

Tato práce si klade za cíl bližší charakterizaci role proteinu IAA17 v regulaci růstu kořene *Arabidopsis*, jeho gravitropní reakce a odpovědi na auxin pomocí existujících a nově vytvořených transgenních linií, využívajících převážně mutantní formu IAA17 AXR3-1.

Testované hypotézy jsou velmi jasné; některé z cílů by mohly být formulovány konkrétněji, aby bylo možné na konci jasně říct, zda byly splněny či nikoliv (viz také níže).

Struktura (členění) práce

Práce je z rozsáhlejších, čítá 123 stran, z toho 24 stran literárního přehledu, 18 stran materiálů a metod, 39 stran výsledků a 12 stran diskuse.

Práce je napsaná anglicky, abstrakt a klíčová slova jsou uvedena v anglickém a slovenském jazyce.

Formální úroveň práce

Z formálního hlediska je práce na vysoké úrovni odpovídající nárokům na manuskript odborného článku. Text je vysázen jednotným fontem, obrazová dokumentace je rozsáhlá (44 obrázků!), jednotlivé obrázky jsou jasné, přehledné a čitelné. Každý obrázek je doplněn adekvátním názvem a přehlednou legendou, je správně odkazován v textu, v relevantních případech nechybí měřítko. Grafy a schémata působí jasně, přehledně a graficky vyvráždě, seznam literatury splňuje všechny požadavky.

Logická stavba a jazyková úroveň práce

Práce je napsaná anglicky, obsahuje všechny požadované části, je logicky členěna a dobře se čte. Jazykově je text, alespoň co mohu se svými omezenými znalostmi angličtiny posoudit, na velmi dobré úrovni, avšak není zcela bez překlepů, jazykových a stylistických chyb a „jizev“ po průběžných úpravách, tyto nedostatky však nepůsobí vyloženě rušivě.

Za jediný výraznější nedostatek považuji časté míchání různých forem narativu – objevuje se jak pasivní „er-forma“, tak „ich-forma“ v jednotném i množném čísle (např. na straně 80: *We can draw some conclusions... Furthermore, I prepared constructs... The prepared constructs were first verified...*) a text mezi jednotlivými formami přechází zdánlivě nahodile. Ačkoli je jasné, že každá z těchto vypravěčských forem dodává obsahu jiné významové nuance, jejich sjednocení nebo jasné oddělení (např. metody a výsledky v pasivu, diskuse v ich-formě) by textu prospělo.

Literární přehled:

Literární přehled odpovídá tématu práce a je logicky rozčleněn do kapitol od nejobecnějších

aspektů (funkce auxinu v rostlinném vývoji) až po ty nejspecifičtější (detailní přehled dosavadních poznatků o proteinu IAA17). Tato část je, stejně jako zbytek práce, přehledná a srozumitelná, citované zdroje jsou relevantní a aktuální.

Zejména v obecném úvodu a v prvních podkapitolách literárního přehledu však u některých tvrzení adekvátní citace buď zcela chybí, nebo je uveden pouze odkaz na přehledový článek na konci odstavce, když by bylo vhodnější citovat primární studii. Klíčová práce školitele (Fendrych et al., 2018) je citována se až uprostřed literárního přehledu na straně 23; vzhledem k tomu, že na poznátcích z této studie celý diplomový projekt stojí, bych považoval za vhodné až nezbytné ji zmínit už v obecném úvodu.

Materiál a metody:

Rozsah použitých experimentálních technik je v kontextu diplomového projektu úctyhodný, všechny metody jsou popsány, přesně, jasně a srozumitelně a odpovídají prezentovaným výsledkům. Této kapitole není co vytknout.

Experimentální část:

Ke zhodnocení rozsahu experimentální části se mi těžko hledají slova, vypůjčím si tedy výraz z angličtiny. Množství provedených experimentů včetně biologických opakování a jejich metodická pestrost je v rámci magisterského studia, z něž studentka ještě strávila několik měsíců na stáži v zahraničí a dalších několik měsíců se nemohla věnovat experimentální práci kvůli pandemii Covid-19, naprosto impresivní!

Cíl každého experimentu je jasně vysvětlen, samotné experimenty jsou přehledně a správně dokumentovány a prezentovány a logicky na sebe navazují. Snad jen v titulcích jednotlivých podkapitol by bylo vhodnější pracovat se studovanými biologickými fenomény, spíše než s názvy použitého genetického materiálu, použité titulky odpovídají spíše záznamům v laboratorním deníku než textu určenému širšímu publiku.

Diskuze:

Diskuze má rovněž velmi vysokou úroveň, studentka vlastní výsledky kriticky hodnotí, srovnává s literaturou a navrhuje další postupy v řešení dané problematiky.

Závěry (Souhrn):

Závěry práce by z mého pohledu mohly být přehlednější a jasnější, zejména pro to, že se přímo nevztahují k vytyčeným cílům. Například k cíli přinést odpověď na otázku *Ovlivňuje změna exprese a lokalizace proteinu AXR3-1 gravitropismus?* bych očekával na základě získaných dat v závěrech tvrzení přibližně *Změna exprese a lokalizace proteinu AXR3-1 má skutečně vliv na gravitropismus.*

Na druhou stranu, takto konkrétní přístup k závěrům by vyžadoval přeformulovat některé cíle (viz také výše). Například otázkou *Podporují neubikvitinované proteiny Aux/IAA růst kořene?* se totiž autorka v práci přímo nezabývá (k tomu by bylo třeba provést experimenty testující vliv ubikvitinace na funkci proteinu).

Zakončení celé práce (vyjma referencí) třemi tečkami v posledním bodě navrhovaných budoucích experimentů nepůsobí nejlépe – bez dalšího vysvětlení není jasné, zda jde o záměrné znázornění otevřenosti budoucí práce, nebo o pracovní poznámku „doplnit další body“, která se do konečné podoby textu vloudila z některé předchozí pracovní verze.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Předložená práce jednoznačně splňuje a převyšuje cíle a požadavky na práci diplomovou. Studentka během magisterského studia ovládla experimentální metody molekulární a buněčné biologie a rostlinné fyziologie, jejichž rozsah je ohromující, obzvláště pak ve světle skutečností, že stihla navíc ještě absolvovat zahraniční stáž a provést rozsáhlý transkriptomický experiment, ačkoli ztratila několik měsíců laboratorní práce kvůli pandemii koronaviru. Osvojené metody studentka využila k získání uceleného souboru dat, který přináší jasné odpovědi na některé důležité otázky týkající se regulace růstu kořene auxinem a funkce proteinu IAA17, a jak tomu u kvalitní vědecké práce bývá, mnoho nových otázek otevírá.

Své poznatky studentka prezentuje a zasazuje do kontextu klasické i současné literatury v podobě vyzrálého textu, který formálně splňuje většinu požadavků na rukopis odborného článku, od velmi dobré angličtiny přes jasné strukturní členění až po grafickou úpravu obrázků a tabulek. Výše uvedené připomínky a návrhy na další zlepšení jsou převážně z kategorie kosmetických. Práci s radostí doporučuji k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta (povinná část posudku):

- Jaký je význam gravitopní reakce pro rostlinu ve skutečném světě? V legendě k obrázku 1 označujete horizontální polohu kořene za nepřírozenou, je toto označení správné, nebo existují i přirozené situace, ve kterých roste kořen horizontálně? Nebylo by pro rostlinu výhodnější určit směr růstu kořene podle gravitace při vyklíčení, a dále během vývoje neplýtvat energií na složitou gravitropickou signální dráhu?
- V literárním přehledu diskutujete možné modely netranskripčních výstupů kanonické TIR1/AFB auxinové signální dráhy. V literatuře se objevují také hypotézy o zcela odlišných signálních kaskádách využívajících alternativní receptory auxinu – můžete některé z nich nastínit?
- Ve své práci využíváte ke studiu lokalizace Aux/IAA proteinů výhradně genetických fluorescenčních reportérů. Objevují se v literatuře data získaná pomocí komplementární techniky imunofluorescence? Mělo by smysl se o detekci pomocí protilátek pokusit v případě IAA17/AXR3-1? Jaké by měl takový přístup výhody a nevýhody ve srovnání s použitím reportérových linií?
- Jedním z nejzajímavějších výsledků Vaší práce je z mého pohledu experiment na obrázku 41, který naznačuje mezibuněčný pohyb proteinu AXR3-1, v diskusi však uvažujete také vysvětlení pomocí transkripční regulace. Jaké „transkripční“ vysvětlení dat z obrázku 41 Vás napadá? Jaký další experiment byste provedla nebo plánujete provést, abyste tuto na tuto otázku získala jednoznačnější odpověď?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: