

# Oponentský posudek na doktorskou disertační práci

## Název práce:

Mechanismy reparace DNA u mechu *Physcomitrella patens*

## Autor:

Mgr. Marcela Holá (Praha 2015)

## Obecné poznámky:

Základem předkládané práce je zavedení nového modelového organismu, mechu *Physcomitrella patens* (čepenka odstálá), pro studium reparace rostlinné DNA. Dále byl tento objekt verifikován jako nesmírně vhodný pro transgenozí, ať už jde o cílenou inaktivaci zájmového genu či o biotechnologickou produkci cizorodých proteinů, nejčastěji s farmaceutickým využitím. Studentka tak dále rozvíjela činnost výzkumné skupiny svého školitele, jež je zaměřená právě na studium reparace DNA u rostlin a produkci zajímavých látek v nich (tzv. molecular farming).

Ve své praxi jsem se již setkal s disertacemi tvořenými kopiemi publikací + několika málo stránkami úvodního textu. V takových pracích však nejsou dostatečně vysvětleny důvody studia ani propojení či návaznost jednotlivých publikačních výstupů, takže je nepovažuji za dobrou volbu. Práce Mgr. M. Holé představuje optimální poměr mezi průvodním originálním textem disertace a textem k tématu se vztahujících přiložených publikovaných článků. Z toho pro mě plyne závěr, že autorka byla schopná své publikace vytvořené během doktorského studia jako celek zhodnotit, okomentovat a vyvodit z nich relevantní závěry.

Práce je sestavena ze tří částí. Zhruba 20stránkový úvodní text seznamuje čtenáře zevrubně se všemi pro práci stěžejními jevy a objekty, tj. s mechanismy reparace DNA, se 3 v experimentech použitými modelovými mutageny, s metodami detekce a studia poškození DNA jakož i s experimentální rostlinou čepenkou odstálou. Následuje část obsahující kopie pěti publikovaných vědeckých časopiseckých článků. Třetí část tvoří diskuse a závěr, jež pokrývají výsledky ze všech pěti článků a vytvářejí tak z celé disertace jednu kompaktní studii a nikoliv soubor jednotlivých více či méně souvisejících publikací.

K formální stránce práce nelze nemít připomínky. I při vědomí toho, že každý jedinec má svůj osobitý styl psaní, se mi jeví text disertace formulačně neobratný, i když fakticky správný. Překlepů je sice v práci poskromnu, ale chyb pravopisných, v drtivé míře v interpunkci, je v ní až neúnosně mnoho. Rozhodně se nechci pasovat do role odborníka na český pravopis, ale chyby v interpunkci jsou někdy takového rázu, že brání i porozumění textu na „první dobrou“. A chyba, kdy slovo rané ve smyslu časné je napsáno s dvěma *n* (str. 27), je v textu na takto vysoké úrovni neomluvitelná. Dále bych si dovolil upozornit, že latinská jména organismů, v tomto případě *Physcomitrella*, se neskloňují. Lze použít postup používaný u drozofily (*Drosophila*) nebo občas využít sklonné jméno české, čepenka. Rovněž si dovoluji tvrdit, že bleomycin jakožto označení chemické látky se píše s malým počátečním písmenem, velké je vyhrazeno pro konkrétní lék s aktivní složkou tvořenou právě bleomycinem (např. Blenoxane, Bleocin). Členění textu na jednotlivé části je jasné a přehledné.

Pokud jde o autorčin příspěvek k rozvoji a prohloubení znalostí dané problematiky, teprve čas resp. citační ohlas jejích vědeckých článků ukáží, jak uspěla v konkurenci ostatních badatelů. Nicméně ustavení haploidního modelového organismu ke studiu reparace rostlinné DNA se povedlo a mělo by vést v blízké budoucnosti k získání dalších poznatků na poli reparace poškozené DNA u rostlin.

## Specifické poznámky:

### Abstrakt

Obsahově dobrý, ale formulačně ve třetím a čtvrtém odstavci velmi neobratný. Tyto části by stálo zato přepsat.

Literární přehled je tvořen kapitolami 1 až 4. Je výbornou částí práce, neboť je informačně bohatý, takže se čtenáři dostane dostatečného množství vstupních informací. S výjimkou výhrad zmíněných výše

v obecných poznámkách je tato část bez připomínek. Dotaz k této části směřuje k Vašemu tvrzení, že záření UVB je z velké části pohlcováno atmosférou (str. 23). Jak velká je tato „velká část“?

### Cíle

Cíl práce byl jasně formulován, stejně jako tři dílčí cíle z něj vyplývající.

### Materiál a metody a Výsledky

Jako samostatné části vlastně nejsou součástí disertace, ale jsou vždy obsaženy v konkrétní publikaci tvořící hlavní část disertace. Výjimkou je několikařádkový text věnovaný kultivaci čepenky. Jeho stručnost je však extrémní, takže čtenáři mnoho neřekne. Připojený výčet devíti použitých metod je podle mě zbytečný, není-li u každé z nich odkaz na stránku(y) připojených publikací, kde by si zájemce mohl okamžitě detaily použitých postupů přečíst.

K výsledkům třetí publikace směřuje můj následující dotaz. Na obr. 2 této publikace prezentujete výsledky Southernovy hybridizace s tím, že na obrázku jsou jen výsledky dvou transformantů, ale v textu práce píšete, že jste jich analyzovala deset. Proč nebyly na obrázku všechny? Také mě zajímá, proč jsou ukázány výsledky jen u transformantů nesoucích konstrukt pKA127 a nikoliv pKA133?

### Diskuse

Diskuse se snaží uvést do kontextu světové vědy všechny výsledky získané během disertace, jež byly prezentované v pěti příložených publikacích. Domnívám se, že se to autorce celkem povedlo. Výhradu mám k části, kde se píše o knockoutu genů u vyšších rostlin. Omezit se na stručné konstatování, že to skoro nejde a podpořit to citací z r. 2002 je nedostatečné. Měly být zmíněny novější technologie, které se už i u rostlin ukázaly jako funkční – nukleázy se zinkovými prsty, TALENy a metoda CRISPR/Cas.

### Závěr

Závěrečný souhrn je jasný a vyplývá z něj, že disertace splnila vytčený cíl.

### Použitá literatura

Možná díky jen namátkové kontrole citací jsem neobjevil v 13stránkovém seznamu žádné rozpory mezi seznamem a v textu citovanými pracemi. Velmi oceňuji funkční webové odkazy na abstrakta/úplná znění citovaných článků.

### **Oponentův závěr**

Celá práce má výbornou úroveň po obsahové stránce a dobrou po stránce formální. Získané výsledky byly publikovány v respektovaných časopisech. Dílčí výsledky autorka jistě prezentovala během svého studia i na konferencích. Doporučuji tedy, aby práce byla přijata k obhajobě a po jejím úspěšném obhájení byl jmenované studentce udělen akademický titul „doktor“ (Ph.D.).

České Budějovice, 8. 11. 2015

doc. RNDr. Jindřich Bříza, CSc.  
Katedra genetiky  
Přírodovědecká fakulta JU  
Branišovská 1760  
370 05 České Budějovice