

Posudek oponenta na diplomovou práci

Autor práce: Bc. Barbora Slovjaková

Název práce:

Analýza transgenných linií *Arabidopsis thaliana* nadexprimujúcich gény kukuričnej adenosínkinázy (ZmADK) a miestne cielená mutagenéza génu ZmADK3

Oponent práce: Mgr. Alžbeta Mičúchová

Poř. číslo	Kritérium hodnocení	Body (0-5)
1	Souhrny práce v českém a anglickém jazyce (úplnost a výstižnost souhrnů)	5
2	Kvalita teoretické části práce (rozsah, struktura a členění kapitol, orientace v oblasti řešeného tématu)	5
3	Práce s literaturou (výběr literárních zdrojů, aktuálnost a relevantnost zdrojů)	5
4	Jazyková a stylistická úroveň textu (výskyt chyb a překlepů, použití odborného stylu, respektování platného názvosloví)	4
5	Používání citačních odkazů (dodržování jednotného stylu citací, používání oficiálních zkratk časopisů, přítomnost necitovaných údajů)	5
6	Cíle práce: definice dílčích cílů a zhodnocení jejich dosažení	5
7	Metodická úroveň práce (srozumitelný a úplný popis použitých experimentálních metod, včetně statistického vyhodnocení výsledků)	4
8	Logika postupu experimentální části práce (design experimentů a jejich návaznost)	5
9	Úroveň grafické prezentace získaných experimentálních výsledků (vhodný výběr grafů a tabulek, zobrazení získaných dat a statistického vyhodnocení)	5
10	Popis získaných experimentálních výsledků (přehlednost, srozumitelnost a návaznost textu výsledkové části)	5
11	Kvalita popisu obrázků (správnost a úplnost legend grafů, tabulek, fotografií a schémat, srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek a symbolů, jednotky uváděných veličin)	4
12	Schopnost diskuze výsledků práce (zobecnění dílčích poznatků, interpretace v aktuálním kontextu poznání, jasné odlišování vlastních závěrů a myšlenek)	5
Celkem bodů (max. 60)		57

Doplňující připomínky a dotazy k práci

V teoretické části predloženej diplomovej práce študentka Barbora Slovjaková popisuje zvolený expresný systém *Arabidopsis thaliana*, rozsiahlo popisuje funkciu adenosínkinázy v metabolických dráhach rastlín a podrobne sa venuje popisu rôznych inducibilných expresných vektorov. Uvedenými informáciami adekvátne ozrejmuje danú problematiku. Výber aktuálnych literárnych zdrojov považujem za adekvátny. Jednotlivé kapitoly teoretickej časti a informácie v nich uvedené na seba plynulo nadväzujú a text je ľahko zrozumiteľný.

V experimentálnej časti sú jednotlivé postupy a metódy analýzy transgenných rastlín *A. thaliana* exprimujúcich izoformy ZmADK a prípravy mutantných foriem ZmADK3 popísané pomerne podrobne, čím umožňujú reprodukovateľnosť experimentov. Výsledky práce a úspešnosť jednotlivých experimentálnych krokov dokladá vhodne zvolenými obrázkami a podrobnými grafmi. Popis získaných výsledkov je prehľadný a logický. Ďalej oceňujem rozsiahlo spracovanú a samostatne vyčlenenú diskusiu.

Z nedostatkov práce spomeniem len, že sa v texte nachádza pár chýb a preklepov, ktoré ale vzhľadom na rozsah práce nepôsobia rušivo. V metodologickej časti som narazila na pár nejasností,

týkajúce sa predovšetkým uvedených koncentrácií antibiotík a v prípade niektorých obrázkov boli chyby v popise, prípadne mali nižšiu kvalitu. Konkrétne prípady uvádzam v prílohe tohto posudku. Za uvedené nedostatky som znížila hodnotenie jazykovej a stylistickej úrovne textu, metodickej úrovne textu a hodnotenie kvality popisu obrázkov.

Záverom musím podotknúť, že diplomová práca študentky Barbory Slovjakovej svojim rozsahom prevyšuje požiadavky kladené na vypracovanie diplomovej práce. Študentka si osvojila hneď niekoľko biochemických a molekulárno-biologických metód a zároveň je zrejmé, že experimentom a prípravou diplomovej práce musela venovať veľa svojho času. Predloženú diplomovú prácu vnímam ako prínosnú a myslím, že jej výsledky sa stali dôležitou súčasťou výskumu zameraného na funkciu adenosínkináz v rastlinách.

Na základe vyššie uvedeného, som diplomovú prácu študentky Barbory Slovjakovej odporučila k obhajobe a hodnotím ju známku A.

K predloženej diplomovej práci mám nasledujúce otázky:

1. Viete si vysvetliť, prečo došlo k detekcii a teda aj k expresii GUS a ZmADK najmä a výrazne v koreňovej špičke? 35S je konšitutívny promótor.
2. Ako si vysvetľujete rozdielnú hladinu exprese génov u línií exprimujúcich ZmADK3? Čo môže byť jej príčinou?
3. V diplomovej práci, v prípade metódy western blot, uvádzate: „Napriek skutočnosti, že bol prenos veľmi úspešný, nebol úplný...“ Čím môže byť neúplný prenos proteínov z gélu na membránu spôsobený? Ako by ste mohli zlepšiť prenos proteínov na membránu?
4. V práci sa vám podarilo potvrdiť expresiu troch isoform ZmADK v rastlinách *A. thaliana* na génovej aj proteínovej úrovni. Na aké ďalšie analýzy by ste tieto rastliny použila a s akým zámerom?

Záver: práci doporučuji k obhajobě.

V Olomouci dne: 6.5. 2024

Podpis

Hodnocení:

A- 56-60

B- 51-55

C- 46-50

D- 41-45

E- 36 -40

F- 35 and méně

PRÍLOHA

Výrazy, preklepy, interpunkcia

Vyhnúť sa výrazom: Ba čo viac... Najprv... Jedná sa o...

pipetovať – nahradiť výrazmi preniesť, odobrať, pridať

Ciele práce: bod 2 nesprávne odsadenie

Str. 14 „Etylén rovnako ako aj ďalšie fytohormóny zabezpečuje odozvu...” - chýbajú čiarky

Str. 36 „...gél do ktorého boli ešte...” – chýba čiarka

Str. 25 GVG/UAS systém a GAL4 – nie sú vysvetlené skratky v texte

Str. 27 ekdyzón – ekdysón

Str. 44 Po 72 h indukcie – upraviť na: po 72 h indukcii

Str. 44 inkubácia v tme pri 37°C, 2 noci – lepšie uviesť časový interval v hodinách

Str. 48 Western blot – western blot

Str. 59 „Proteíny boli pipetované tak aby v každej...” – chýba čiarka

Str. 62 „Jedná sa o glukokortikoidným hormónom (DXM je syntetický glukokortikoidný hormón) indukateľný transkripčný systém.” Komplikovaná formulácia. Upraviť: Ide o transkripčný systém indukovaný glukokortikoidným hormónom...

Str. 63 vzniknutie modrého zafarbenie – upraviť na: vzniknutie modrého zafarbenia

Str. 70 Amodová čerň – amidová čerň

Nejasnosti v texte:

Str 34 „X-Gluc o zásobnej koncentrácii 25 mg/ul” – jednotky nie sú správne

Str. 42 Aké množstvo rastlinného materiálu bolo použité pre izoláciu gDNA? Vhodné uviesť v metódach.

Str. 42 „Pri vhodnej teplote (približne 50 °C) bolo do zmesi pipetovaných 15 µl etidium bromidu.” – uviesť final. koncentráciu etidium bromidu v 100 ml TAE s 1% agarózou.

Str. 53 Chemická transformácia buniek: bunky boli inkubované 45 s vo vodnom kúpeli na 42°C. Následne bolo pridané zohriate SOC médium – chýba krok ochladenia buniek na ľade pred prídavkom SOC média, podľa štandardného protokolu.

Str. 54, Str. 56 „sterilná Petriho miska s LB agarom a spektinomycínom (100 mg/ml) – uvádzate koncentráciu zásobného roztoku antibiotika. Z textu ale vyplýva, že by tam mala byť uvedená finálna koncentrácia antibiotika v LB médiu.

Obr. 6 Nízka kvalita obrázku.

Obr. 11 Do obrázku by bolo vhodné priradiť jednotlivé čísla/pozície génom *ZmADK1*, 2, 3 (podobne ako v obrázkoch 17, 18, 19)

Obr. 11 V popise obrázka je chybné označená pozícia 5 – *ZmADK1* #4-7. Má byť *ZmADK2* #4-7.

Obr. 12 V popise obrázka by som vypísala hlavné gény vo vektore s farebným označením + uviesť aj primery, ktoré sú v obrázku alebo ich odstrániť.

Obr. 22 Zvolila by som iné označenie kontroly. Skratka WT (angl. wild type) evokuje, že ide o netransgénny organizmus.