

Posudek oponenta na diplomovou práci

Autor práce: Bc. Eva Kodadová

Název práce: Stabilní transformace fluorescenčně značené mitogen-aktivované proteinkinasy MMK2 do rostlin *Medicago sativa*

Oponent práce: RNDr. Peter Illés, Ph.D.

Poř. číslo	Kritérium hodnocení	Body (0-5)
1	Ucelenost a aktuálnost rešeršní části práce	4
2	Kvalita úvodní části práce (množství použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru)	3
3	Naplnění cílů práce	5
4	Logika postupu při vlastní rešeršní nebo experimentální práci	5
5	Úplnost popisu používaných metodik a postupů	4
6	Úroveň zpracování výsledků (vhodné používání grafů a tabulek atd.)	4
7	Adekvátnost interpretace získaných výsledků a jejich diskuse	4
8	Výstižnost souhrnů práce v českém a anglickém jazyce	5
9	Grafická úprava textu a obrázků	5
10	Jazyková a stylistická úroveň, respektování platného názvosloví	4
11	Správnost a úplnost legend u obrázků a tabulek (srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	5
12	Správnost používání citačních odkazů (přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací, používání oficiálních zkratk časopisů)	5
Celkem bodů		53

max
60

Závěr: práci doporučuji k obhajobě.

V Olomouci dne: 21.5.2021

Podpis: RNDr. Peter Illés, Ph.D.

Hodnocení:

- A- 56-60
- B- 51-55
- C- 46-50
- D- 41-45
- E- 36-40
- F- 35 a méně



Oponentský posudok k diplomovej práci – pripomienky a dotazy

Diplomová práca Bc. Evy Kodadové sa zaoberá prípravou stabilne transformovaných rastlín *Medicago sativa*, nesúcich gény pre expresiu fluorescenčne značenej MMK2. Predložená práca je napísaná pomerne zrozumiteľne, so zachovaním logickej postupnosti a pôsobí uceleným dojmom. Svojim rozsahom, obsahom a získanými výsledkami spĺňa všetky kritériá požadované pre tento typ práce. Študentke sa podarilo naplniť všetky ciele stanovené v diplomovej práci.

K práci mám nasledujúce pripomienky:

- v literárnom prehľade (str. 13) autorka uvádza rozšírenie lucerny, ale úplne opomenula americký kontinent, aj napriek tomu, že produkcia *Medicago sativa* v Severnej Amerike predstavuje viac ako 40% celosvetovej produkcie a spolu s Južnou Amerikou je to viac ako 60%.
- v kapitole 3.1.2 Použité prístroje autorka uvádza objektívy ako prístroje. Naopak chýba zmienka o konfokálnom mikroskope Zeiss LSM 710.
- v kapitolách 3.2.3 – 3.2.7 Príprava médií autorka duplikuje údaje z kapitoly 3.1.4 Použité roztoky a média, podobne ako aj v Tab. 1 a kapitole 3.1.7 Plazmidy. Chýbajú informácie o zložení pufrov P1, P2 a P3, ktoré boli použité pri izolácii plazmidovej DNA.
- pri príprave médií autorka uvádza, že bolo navážených $x \text{ g.l}^{-1}$ látky a pridaných $y \text{ ml H}_2\text{O}$. Navážka má byť správne uvádzaná v g a nie v g.l^{-1} .
- *Agrobacterium tumefaciens* sa v skrátenom tvare označuje ako *A. tumefaciens* a nie ako *Ag. tumefaciens*
- na viacerých miestach v práci autorka zmieňuje, že pracovala s transgénnymi semenáčkami rastlín. Nezamieňať kľúčne rastliny s mladými rastlinami regenerovanými z kalusu!
- kapitola 5 Diskuze je do značnej miery sumarizáciou získaných výsledkov. Osobne mi v diskusii chýba, že sa autorka podrobnejšie nevenovala plazmidom využitým na transformáciu a dôvodu použitia konštruktov s tromi rozličnými promótorami.

K predkladanej práci mám nasledujúce dotazy:



1. Na str. 23 autorka uvádza, že „Aktivované geny virulence produkují proteiny, jako jsou VirD1/VirD2 endonukleázy, které zajišťují syntézu ssT-DNA...“. Skutočne endonukleázy zabezpečujú syntézu ssT-DNA? Mohla by autorka uviesť toto tvrdenie na správnu mieru a popísať úlohu VirD1 a VirD2 proteínov?
2. Na str. 26 sa autorka venuje selekčným systémom pri získavaní transformovaných rastlín. Mimo iné uvádza, že pri selekčnom systéme využívajúcom rezistenciu voči fosfinitricínu sprostredkovanú *bar* génom je účinnosť transformácie nízka v porovnaní so selekčným systémom využívajúcim *pat* gén, pri ktorom je účinnosť transformácie vyššia ako 50%. Pod pojmom stabilná transformácia sa rozumie udalosť, kedy dôjde k začleneniu introdukovanej DNA do genómu transformovaného organizmu. Môže byť účinnosť tohto procesu (transformácie), čiže ako efektívne dochádza k zabudovaniu vkladaneho génu do DNA, závislá od výberu selekčného systému? Ak áno, uveďte ako.
3. V práci boli rastliny *M. sativa* transformované pomocou troch konštruktov, líšiacich sa použitými promótorami. Mohla by autorka uviesť, aké sú výhody použitia natívneho a konštitutívneho promotora pri štúdiu MAP kinázových signálnych dráh?

V Olomouci, 21.5.2021

RNDr. Peter Illés, Ph.D.