

Posudek oponenta na diplomovou práci

Autor práce: Bc. Zuzana Mičková

Název práce: Klonování a charakterizace substrátové specifity cytokininových receptorů z *Brassica napus*

Oponent práce: Mgr. David Zalabák, PhD.

Poř. číslo	Kritérium hodnocení	Body (0-5)
1	Ucelenost a aktuálnost rešeršní části práce	5
2	Kvalita úvodní části práce (množství použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru)	5
3	Naplnění cílů práce	5
4	Logika postupu při vlastní rešeršní nebo experimentální práci	5
5	Úplnost popisu používaných metodik a postupů	5
6	Úroveň zpracování výsledků (vhodné používání grafů a tabulek atd.)	5
7	Adekvátnost interpretace získaných výsledků a jejich diskuse	5
8	Výstižnost souhrnů práce v českém a anglickém jazyce	4
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)	4
12	Správnost používání citačních odkazů (přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací, používání oficiálních zkratk časopisů)	5
Celkem bodů		57

max
60

Konkrétní připomínky a dotazy (možno připojit samostatný list)

Práce předkládaná k obhajobě sestává ze dvou hlavních částí, teoretické a praktické. V první (teoretické) části se autorka věnuje metabolismu a signálním drahám cytokininů. S tématem práce nejvíce souvisí kapitola zaměřená na cytokininové HK receptory. Autorka se zde detailně věnuje zejména ligandové specifitě HK receptorů z modelových rostlin *Arabidopsis* a kukuřice. Tato část práce je zpracována velmi pečlivě, shrnuje zde aktuální poznatky související s tématem a tvoří ucelený a přehledný úvod k experimentální části práce.

V experimentální části se Bc. Mičková nejprve věnovala klonování genu kódujícího řepkový receptor BnCHK3 z modelové rostliny *Brassica napus* nejprve do „entry“ vektoru pDONR221 a následně do destinačního vektoru pDEST14, s využitím Gateway technologie. Jak autorka popisuje, během těchto experimentů se vyskytla řada komplikací, které se ovšem nakonec podařilo překonat a byly tak připraveny konstrukty nesoucí gen *BnCHK3*. Pozitivně hodnotím využití nové techniky označované jako „touch-up“ PCR. Dále byla provedena charakterizace ligandové specifity tří řepkových cytokininových receptorů BnCHK3, BnCHK1 a jeho variantu zkrácenou o jednu transmembránovou doménu BnCHK1-TM. Výsledky jsou zpracovány pečlivě, jsou logicky uspořádány a diskutovány v kontextu již publikovaných studií AHK receptorů.

V práci jsem našel pouze několik překlepů a nepřesností, např. tkáňová kultura tabáku (str. 12), u několika elektroforetogramů chybí popisky drah (konkrétně obr. 16 a 17) atp. Jedná se však pouze o detaily, které nijak zásadně nesnižují kvalitu vlastní práce. Vytyčené cíle byly splněny, práci hodnotím velmi pozitivně a doporučuji ji k obhajobě.

Dotazy:

1. Velmi nízká účinnost LR reakce je poměrně překvapivá, čím si ji vysvětlujete a jak by bylo možné ji zvýšit? Bylo by pro vaše účely možné použít jiný destinační vektor, pokud ano uveďte příklad.
2. Mohla byste prosím popsat a vysvětlit rozdíl mezi Touch-down a Touch-up PCR reakcí? V čem jsou jejich výhody, pro jaké templáty se používají? Jaká jiná aditiva PCR reakce, kromě DMSO, by se daly použít ke zvýšení účinnosti PCR reakce. Mají tato aditiva nějaký negativní vliv na kvalitu PCR produktu? Pokud ano, popište jaký.
3. Mohla byste prosím detailně vysvětlit fylogenetické vztahy studovaných řepkových receptorů BnCHK1 a BnCHK3 k jejich homologu AHK2 z *Arabidopsis*. Vysvětlete prosím pojmy ortholog, paralog, homolog atp.
4. Co znamená C ve zkratce názvu řepkových receptorů BnCHK? Proč ostatní zkratky názvů HK receptorů jako např. AHK, ZmHK, OsHK neobsahují C.

Závěr: práci doporučuji k obhajobě.

V Olomouci dne 18. srpna 2014

Podpis

Hodnocení:

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