

Posudek oponenta *bakalářské x diplomové práce*

Autor práce: Bc. Alžběta Hamplová

Název práce: Světlem regulovaná exprese genů *CLC* a jejich úloha ve fotomorfogenezi rostlin

Typ práce*: *diplomová*

Kritérium hodnocení	Dílčí hodnocení**						
	A	B	C	D	E	F	nelze hodnotit
Celkový rozsah práce, vyváženost jednotlivých částí, struktura			x				
Kvalita teoretické části (množství poznatků z literární rešerše)	x						
Výstižnost formulace základního problému a cílů práce		x					
Logika postupu při vlastní rešeršní nebo experimentální práci		x					
Úplnost popisu použitých metodik a postupů		x					
Úroveň zpracování výsledků (grafy, tabulky, fotografie)		x					
Úroveň legend obrázků a tabulek (správnost, srozumitelnost a úplnost legend)			x				
Adekvátnost interpretace výsledků		x					
Způsob diskuse, začlenění do kontextu výzkumu na pracovišti a ve světě		x					
Výstižnost souhrnu		x					
Jazyková a stylistická úroveň, názvosloví		x					
Správnost citace použité literatury (přítomnost necitovaných zdrojů, jednotný styl, oficiální zkratky časopisů)		x					

Navrhovaná známka*:

B

Komentář k práci, připomínky a dotazy.

Tato část je nepovinná, libovolného rozsahu. Slovní hodnocení vhodné zejména při horším známkování.

Poznámky:

* Nehodící se škrtněte / vymažte.

** Hodnocení křížkujte.

*** Do výsledné známky započítejte jen hodnocené položky

Předložená diplomová práce řeší otázku vztahu exprese genů pro aniontové kanály typu CLC ve vztahu k světelným podmínkám a přítomnosti inhibitorů u rajčete jedlého (*Solanum lycopersicum*). Jedná se tedy o kombinaci studia fyziologického jevu pomocí molekulárně biologického přístupu. Kromě kontrolních rostlin byla v pokusech využita i mutovaná rostlina 7B-1 s pozměněnou citlivostí k modrému světlu. Práce měla za cíl odpovědět na otázku, zda je exprese proteinů pro aniontové kanály CLC_b a CLC_c závislá na světelných podmínkách, tedy zda jsou aniontové kanály zapojeny do procesu fotomorfogeneze.

Dílčím cílem práce bylo rovněž provést shrnutí řešené problematiky s využitím dostupných literárních pramenů z oblasti fotomorfogeneze a iontových kanálů u rostlin, byť k vlastní experimentální práci se vztahuje jen menší část tohoto přehledu. Nicméně, autorka prokázala schopnost pracovat s literárními zdroji a je třeba ocenit i jejich recentnost. Nemalá část citací pochází z let 2015-2018. Občas se některé části různých kapitol prolínají (např. samostatná kapitola o aniontových kanálech ve svěracích buňkách průduchů na str. 16 versus popis činnosti kanálů typu S ve svěracích buňkách v jiné kapitole na str. 18). Jako klíčový pro pochopení problematiky se jeví obrázek 1 shrnující lokalizaci a činnost aniontových kanálů na membránách.

Oproti literární části, experimentální část je poměrně chudá (8 stran včetně popisu metod, výsledků a diskuse oproti 21 stranám literárního přehledu). Výsledky vycházejí pouze z metody kvantitativní RT-PCR s tím, že autorka musela zvládnout celý postup od začátku, od přípravy rostlinného materiálu přes následnou izolaci RNA. Autorka evidentně pracovala pečlivě, avšak vzhledem k velkým statistickým chybám mohla zařadit více opakování, byť jejich počet vlastně není úplně jasný, viz. údaj „z několika nezávislých experimentů“ v legendách. Chybí mi popis zpracování výsledků qPCR. Byla relativní exprese genů vypočítána metodou delta-delta ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)?

Autorka vlastně řeší problematiku na úrovni transkripce, ale chybí zde informace, zda existují poznatky, jakým mechanismem působí inhibitory iontových kanálů. Dochází k specifickému potlačení transkripce či se jedná o protein-proteinovou interakci? Něco je naznačeno na str. 30, ale spíše jen z fyziologického, nikoliv molekulárního hlediska.

Výsledky či metodická část mohly být obohaceny o ukázkou pozice primerů pro CLC geny s uvedením očekávané velikosti produktu. Práci by prospěly i např. reprezentativní fotografie ukazující hypokotylы rajčete před izolací RNA (či alespoň slovní popis), aby bylo možné posoudit vliv světla a inhibitorů kanálů na jejich fenotyp.

Drobné připomínky:

- kapitola Materiál a pracovní postupy je popsána velmi podrobně, podkapitola „Drcení vzorků“ spíše patří pod kapitolu „Extrakce RNA“
- Proč byly vzorky hypokotylů odebrány při slabě zeleném osvětlení?
- V práci byly použity v podstatě 3 různé housekeeping geny LeGAPDH, EF1 α a Tip41-like, ale každý pro jiný účel. Byl zde konkrétní důvod pro výběr těchto genů pro tyto účely?
- U přístroje Mx3000P není uveden výrobce.
- Autorka v textu střídavě používá české i anglické výrazy annealing/nasednutí, terminologii by bylo třeba sjednotit.

Další poznámky:

- Je známo, jak by se projevila mutace genů CLC? Byla by pro rostliny letální?
 - Je dobře, že už se objevují po mnoha letech náznaky o identitě genu 7B-1 (S/GLO2).
- Jak by se toto dalo potvrdit?

Na diplomové práci lze ocenit minimum překlepů, velké množství citované literatury uspořádané do seznamu s minimem chyb (občas neúplný výčet autorů s „et. al.“ na konci, někdy už po 5 autorech, jindy úplný výčet třeba 11 autorů)

Celkově lze říci, že oba cíle práce byly splněny, i když na práci je vidět určitá nezkušenost autorky. Práce by mohla být ve výsledkové části bohatší, na druhou stranu některé pasáže literárního přehledu mohly být stručnější. Celkové hodnocení se pohybuje na hraně mezi známkami B a C, ale vzhledem k minimálnímu množství formálních chyb, se přikláním k „B“.

Závěr: práci **doporučuji** k obhajobě.

V Českých Budějovicích dne 22.5.2018

Ing. Tomáš Kocábek, Ph.D.

Poznámky:

* Nehodící se škrtněte / vymažte.

** Hodnocení křížkujte.

*** Do výsledné známky započítejte jen hodnocené položky

