

Posudek oponenta na diplomovou práci

Autor práce: Karel Vrabka

Název práce: Analýza repetitivních sekvencí B chromozomu u druhu *Sorghum purpureosericeum*

Oponent práce: Mgr. Karol Krak, 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)	4
3	Naplnění cílů práce	4
4	Logika postupu při vlastní rešeršní nebo experimentální práci	5
5	Úplnost popisu používaných metodik a postupů	3
6	Úroveň zpracování výsledků (vhodné používání grafů a tabulek atd.)	4
7	Adekvátnost interpretace získaných výsledků a jejich diskuse	1
8	Výstižnost souhrnů práce v českém a anglickém jazyce	5
9	Grafická úprava textu a obrázků	4
10	Jazyková a stylistická úroveň, respektování platného názvosloví	5
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		48

max
60

Konkrétní připomínky a dotazy (možno připojit samostatný list)

Práce Bc. Karla Vrabky je zaměřena na identifikaci repetitivních DNA sekvencí charakteristických pro rostliny *Sorghum purpureosericeum* s přítomností B chromosomů. K dosažení tohoto cíle byl v rámci práce vyvinut software k analýze a vizualizaci výsledků z programu RepeatExplorer. Bylo identifikováno několik repetitivních DNA, na základě kterých byly designovány a experimentálně validovány PCR markery k identifikaci rostlin s B chromozomy. Výsledky práce jsou zajímavé a originální.

První část práce (literární rešerše) poskytuje pěkný přehled současných poznatků o B chromozomech a možnostech identifikace repetitivních elementů eukaryotických organismů. Vlastní experimentální část práce je originální a poctivě zpracovaná. Metodika práce obsahuje několik nepřesností a nesrovnalostí, stejně jako popis výsledků (většinu z nich uvádím jako „Další poznámky a komentáře ...“).

Práce má výraznější rezervy v kapitole věnované výsledkům a diskusi. Jedná se o

podrobný popis dosažených výsledků, tyto však nejsou náležitě diskutovány. Tato slabina je korunována faktem, že v celé kapitole není uvedena ani jedna citace. Jako další, i když mnohem méně závažný, nedostatek vnímám přílišné zaměření kapitoly (a vlastně celé práce) na technické aspekty, na úkor těch (alespoň podle mě) mnohem zajímavějších biologických. Konkrétně je věnován velký prostor prezentaci vlivu délky sekvencí a přítomnosti duplikovaných sekvencí na identifikaci repetitivních elementů. Na druhou stranu úplně chybí ucelené a přehledné srovnání repetitivních elementů mezi rostlinami s B chromosomy a bez nich. Jsou uvedeny pouze B specifické repete, které byly využity k vývoji PCR markerů. Nejsou však nikde prezentovány případné kvantitativní rozdíly (nebo jejich absence) u těch repetitivních elementů, které byly identifikovány u obou genotypů. Tyto výsledky jsou přitom z hlediska pochopení dynamiky B chromosomů a jejich vztahů s A chromosomy neméně zajímavé.

I přes tyto nedostatky konstatuji, že byly cíle práce splněny a práci doporučuji k obhajobě.

K obhajobě práce mám tyto otázky:

1. V úvodní části práce se zaměřujete na popis postupů, které lze využít k identifikaci repetitivních elementů z krátkých sekvencí (100 – 250 bp, generovaných platformou Illumina), které nejsou skládány do větších celků. Zajímalo by mě jakým způsobem lze identifikovat repetitivní elementy v případě použití třetí generace sekvenování (generujících sekvence dlouhé několik kbp) a nebo složených celogenomových sekvencí (assembly)?
2. Jak už jsem zmínil výše, chybí mi celkový přehled identifikovaných repetit a jejich proporčního zastoupení v genomech rostlin s B chromosomy a bez nich. Mohl byste tyto rozdíly prezentovat a okomentovat je?
3. Na straně 38 uvádíte rozdíly v počtu některých anotovaných repetit u datasetů s rozdílnou délkou sekvencí. Tyto rozdíly jsou nejvýraznější u repetitivních elementů s nízkou reprezentací v genomu. Nemůže se spíše než o efekt délky sekvence jednat o efekt náhodného výběru sekvencí (před analýzou v RepeatExploreru byl pro každý datový soubor náhodně vybrán určitý počet sekvencí)? Nezkoušel jste opakovat náhodný výběr sekvencí pro každý ze souborů dat a analyzovat tyto výběry jako nezávislé vzorky?
4. Jaká je velikost B chromosomů, resp. jak velkou část genomu Vámi studovaných rostlin představují? Jakým způsobem to byste to zjišťoval?

Další poznámky a komentáře (nejsou určeny k obhajobě):

Strana 3, poslední odstavec kapitoly 2.1 – uvádíte, že: „Introny jsou části RNA transkriptu, které musí být před translací odstraněny potranskripčními úpravami RNA.“ Tímto tvrzením si protiřečíte, o odstavec výše píšete: „... množství tzv. nekódujících sekvencí DNA (Obr. 1), tedy sekvencí, které nejsou transkribovány do mRNA...“ a „Mezi nekódující sekvence patří introny, pseudogeny, regulační sekvence a repetitivní sekvence (Lodish et al., 2016).“ Jak to tedy je, jsou introny transkribovány a nebo ne?

Kapitola 2.7, strana 19 – škoda že neilustrujete slovní popis tvaru grafů satDNA a transpozibilních elementů obrázky.

Kapitola 3.1 – není jasné jakým způsobem byly identifikovány rostliny s B chromosomy, které byly později sekvenovány.

Kapitola 3.6., strana 24 – je uveden odkaz na Obrázek 1, jedná se asi o chybu.

Metodika končí popisem designu primerů k B chromosom specifickým repetitívám. Neobsahuje však už podrobný popis experimentální validace těchto primerů, i když jsou prezentovány její výsledky. Také nejsou nikde uvedeny sekvence designovaných primerů.

Kapitola 4.1. neobsahuje vlastní popis výsledků analýzy v programu RepeatExplorer, jedná se o obecný přehled formátů výstupu, které software generuje.

Kapitola 4.2., strana 28 – je uveden odkaz na Obrázek 1, předpokládám, že se jedná o chybu.

Strana 32 – „Extrakce TAREAN konsenzuálních sekvencí...“ odkazuje k obrázku 9F, mělo by být 9H.

Obrázek 15 – pravděpodobně je prezentovaná špatná verze obrázku, výslední graf je prázdný.

Chyby, které je nutno opravit

Závěr: práci doporučuji / nedoporučuji k obhajobě.

V Olomouci dne: 2.6.2021

Podpis



Hodnocení:

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