

Posudek oponenta na diplomovou práci

Jméno oponenta: RNDr. Martin Převorovský, Ph.D.

Datum: 19. 5. 2022

Autor: Bc. Tomáš Kašpar

Název práce:

Role AGO-hook domény histonového chaperonu SPT6L v regulaci genové exprese

Cíle práce

Zjistit funkci domény AGO-hook u proteinu SPT6L u *A. thaliana*:

- ukázat důležitost domény z evolučního hlediska
- potvrdit interakci proteinů AGO s doménou AGO-hook SPT6L
- ukázat jak se AGO-hook SPT6L podílí na změnách transkriptomu a ovlivňuje funkci RNA Pol II

Struktura (členění) práce

Rozsah práce (počet stran): 89 stran

Je uveden anglický i český abstrakt a klíčová slova? ANO

Struktura práce je standardní. Práce obsahuje 4 přílohy.

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, seznam literatury)

- grafická úprava práce je na vysoké úrovni
- obrazová dokumentace je kvalitní a dostatečná (moje drobné připomínky níže); autor pro Literární přehled připravil několik vlastních kvalitních schémat (na autorství usuzuji z absence citace u těchto obrázků)
- seznam literatury obsahuje 158 položek, zdá se být jednotně formátován, přehledné články jsou označeny

- Tabulka 14 na str. 49 = Tabulka 15 (+ následně došlo k posunu číslování všech dalších tabulek)

- str. 44 dole - odkaz má být na Tabulku 10, nikoli 9

Logická stavba a jazyková úroveň práce

- jazyková úroveň je vysoká
- text má kvalitní logickou stavbu, kapitoly jsou provázané
- práce se dobře čte a je srozumitelná
- množství překlepů není velké (ale autor poněkud bojuje s čárkami ve větách)

Literární přehled:

Odpovídá tématu a je logicky členěn? ANO

Je napsán srozumitelně? ANO

Jsou použité literární zdroje dostatečné, relevantní a aktuální? ANO

Jsou literární zdroje (včetně obrázků) v práci správně citovány? ANO

- Literární přehled je podrobný, čtivý, informativní.

Materiál a metody:

Šíře použitých metodik. - použita široká škála metod, od molekulárně biologických, přes kultivace rostlin, po bioinformatiku

Odpovídají popsané metody prezentovaným výsledkům? ANO

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

- oceňuji přesnou specifikaci použitých protilátek (kat. číslo)
- Tabulka 5 - "koncentrace" nikoli "množství"
- Tabulka 7 - chybí koncentrace roztoku EDTA
- str. 44 - GSE IDs – není uvedeno o jakou databázi se jedná (GEO)
- str. 44 nahoře – v textu k bioinformatické analýze nejsou uvedeny verze SW a citace

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO, velmi jasně

Je dokumentace výsledků adekvátní? ANO, ale vzhledem k množství odvedené práce je prezentovaná dokumentace spíše úsporná

Je množství provedených experimentů dostačující? ANO

- oceňuji jasná upozornění na místa, kde byly z fotek gelů odstraněny irelevantní části (dráhy)
- fylogenetické stromy Obr. 7 a 8 - nejsou vysvětleny výsledky bootstrappingu a měřítko míry substitucí
- Obr. 10 – není mi jasné jak byly sjednoceny či zohledněny nanášky proteinových vzorků
- Obr. 13 – chybí vysvětlení, co konkrétní proužky na gelu znamenají

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO

Diskuze je velmi kvalitní, autor své výsledky skutečně interpretuje, text neobsahuje obecnou „vatu“. Autor si je vědom limitací zvolených metod a získaných dat. Autor popisuje následné kroky pro další práci na projektu.

Závěry (Souhrn):

Jsou závěry podloženy výsledky? ANO

Jsou výstižně formulovány? ANO

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

DP Tomáše Kašpara je podle mne vysoce nadprůměrná. Autor si osvojil širokou škálu metod (wet + dry) a získal kvalitní data, která jistě pomohou projekt dále rozvíjet a/nebo se stanou součástí odborného článku.

Množství prezentovaných výsledků je vysoké (a podle všeho spousta práce padla na neprezentované optimalizace a slepé uličky), ale více na mne zapůsobila kvalita sepsání. Jedná se o velmi vyzrálý text, který dobře odlišuje podstatné od podružného, je jasně formulovaný a má dobrou logickou strukturu a provázanost.

Vytyčené cíle byly splněny.

Celkově práci hodnotím velmi pozitivně.

Otázky a připomínky oponenta (povinná část posudku):

Připomínky:

- nabízí se možnost nasdílet vytvořenou historii či workflow v Galaxy, popř. umístění skriptů na GitHub (až bude strategické toto zveřejnit)
- Příloha 4 – hodnoty „Q20 [%]“ a „Q30 [%]“ se týkají kvality basecallingu a ne mapování

Otázky:

- pro imunodetekce byl použit TBS s různým pH pro různé protilátky – má to praktický dopad?
- proč autor pro detekci ECL používal expozici na filmy a ne CCD kameru?
- Obr. 10 - proč má protein SPT6L Ah_delta na blotu o tolik slabší signál než SPT6L o plné délce? Je očekávané, aby TEF pro RNA PolII měl takhle nízkou hladinu exprese?
- co přesně představuje hodnota „error [%]“ v Příloze 4?
- na jakém základě jste se rozhodli pro hloubku sekvenování transkriptomu 40 M read pairs na vzorek? Byla tato hloubka dostatečná?
- ví se něco o přítomnosti a funkci domén AGO-hook u hub?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta:

Pozn. Obvyklá délka standardního posudku je cca 2-3 strany.

Instrukce pro vypracování a odevzdání posudku-po dokončení posudku možno tyto instrukce smazat:

- Pro vypracování posudku diplomové práce použijte tento formulář, text standardním písmem slouží jako vodítko
- Posudek můžete sami vložit do SIS, anebo s předstihem zaslat v elektronické podobě na adresu: hana.konradova@natur.cuni.cz a lipavska@natur.cuni.cz, a dále zajistit dodání podepsaného originálu (v 1 výtisku, jako součást protokolu o obhajobě) na sekretariát Katedry experimentální biologie rostlin PŘF UK (p. Elena Kozlová), Viničná 5, 128 44 Praha 2. Podepsaný originál posudku musí být dodán před vlastní obhajobou, bez něho nesmí být obhajoba zahájena!