

Posudek na diplomovou práci	
<input type="checkbox"/> Posudek školitele	Jméno školitele: Kateřina Schwarzzerová
	Datum: 31.8.2018
Autor: Bc. Kamila Dubenecká	
Název práce: Analýza dynamiky CESA komplexů v rostlinách s narušeným cytoskeletem	

Zařazení předkládané práce do kontextu dalších prací týmu

Tato diplomová práce zahrnuje experimenty, které plně zapadají do stávajícího výzkumného směru laboratoře Cytoskeletu. V souvislosti s nedávno publikovanými výsledky naší laboratoře, které prokázaly změny ve složení buněčné stěny rostlin postrádajících funkční proteinový komplex ARP2/3, bylo hlavním cílem této práce zjistit, zda existují jakékoliv změny v míře či způsobu syntézy celulózy u těchto mutantních rostlin. Základním nástrojem se z technických důvodů stala analýza rychlosti pohybu CESA komplexů v buňkách hypokotylu semenáčků rostlin (v jiném typu buněk je dynamika CESA komplexů prakticky neanalyzovatelná). Jde o velmi specializovaný vizualizační experiment, který lze provádět pouze na speciálních mikroskopech, které tyto proteinové struktury vůbec dovolují pozorovat (spinning disk, TIRF/VAEM mikroskopie). Projekt je o to zajímavější, že změny ve složení buněčné stěny nejsou podle našich předchozích výsledků detekovatelné biochemickými metodami u semenáčků, ale pouze v pozdějších fázích vývoje. A jakékoliv změny odhalené v semenáčcích by byly tedy velmi zajímavé. V případě zajímavých výsledků byly naplánovány další pokusy, kdy měla být sledována obnova celulózy buněčné stěny u protoplastů z mutantních rostlin. Regenerace buněčné stěny u protoplastů tabáku je standardní experiment naší laboratoře, bylo třeba jej však aplikovat na rostliny *Arabidopsis*.

Přístup studenta k zadanému tématu a postup práce

Studentka musela během práce nejdříve zavést daný marker CESA-YFP do mutantních linií *Arabidopsis* při zachování homozygotního stavu mutace genu *cesa6/prc1*, který je fluorescenční fúzí komplementován. Pro tuto práci byla zvolena postupná selekce rostlin na základě fenotypů, které jsou jasně odlišitelné již ve stádiu semenáčků (zkroucené trichomy, porucha expanze buněk kořene, fluorescenční marker). Poté studentka zavedla pozorování daného typu buněk na spinning disc mikroskopu (k dispozici na ÚEB), a posléze i pomocí TIRF/VAME metody pozorování (k dispozici ve Viničné 7). Práce byly vedeny spíše nárazově, což mělo za následek pomalejší postup křížení a selekci. Mikroskopii však studentka posléze zvládla velmi dobře, a to i přes ztížené podmínky dojíždění do Ústavu experimentální botaniky, než byl k dispozici mikroskop ve Viničné 7. Experimenty s protoplasty byly odloženy na poslední rok rozloženého ročníku. I tyto experimenty se nesmírně zpožďovaly. Diplomantka experimenty prováděla po nocích a prakticky výsledky nekonzultovala, což bylo na velikou škodu zvláště proto, že se experimenty nedařily a nebyla tedy možnost dříve zasáhnout. K výsledku jsme proto společně dospěly značně pozdě a těsně před dokončením diplomové práce. Nárazový způsob práce a především nedostatečné konzultování výsledků tak způsobilo to, že výsledků za několik let práce je málo, a to je v případě tohoto projektu obzvláště škoda. Některé analýzy nejsou provedeny na dostatečném množství rostlin. Ačkoliv tedy výsledek, kdy CESA komplexy vykazují pomalejší pohyb u mutantních rostlin, je nesmírně zajímavý, a navíc podpořen pozorováním pomalejší obnovy celulózy u protoplastů z mutanta *arpc5*, výsledky bude třeba zopakovat na dostatečném množství vzorků. Při soustavnější experimentální práci by byly výsledky pravděpodobně v současné chvíli připraveny pro publikaci. Za dobrý výsledek však považuji vytvoření linií s markerem a zavedení mikroskopie CESA komplexů.

Oproti experimentální práci však velmi vysoko hodnotím samostatnost a schopnosti studentky při psaní samotného textu diplomové práce. K mému milému překvapení sepsala text prakticky bez pomoci a kromě několika drobností a doporučení na změnu struktury některých textových částí nebylo třeba zásadně zasahovat. Velmi se mi líbila diskuse výsledků a tvorba hypotézy, která je plně v souladu se současnými znalostmi cytoskeletu rostlin a jeho role v syntéze buněčné stěny. Studentka sepsáním diplomové práce prokázala, že se dokáže orientovat ve vědecké literatuře, že o svých výsledcích přemýšlí a dokáže je zasadit do rámce

současného poznání.

Kvalitně sepsaná práce mě nakonec znejistěla, zda celkové hodnocení 2 je vhodné. Nesouvislý postup práce a malé množství výsledků je jistě negativem této práce. I když lze jistě vytykat nedostatečné konzultování práce se školitelem, případně týmem laboratoře, což je předpokladem pro dobrého vědce, je jinak účel diplomové práce nepochybně a dobře splněn. Přikláním se tedy ke známce mezi 1 a 2.

Celkové hodnocení 1-2

Podpis školitele

Instrukce pro vypracování a odevzdání posudku:

- Pro vypracování posudku diplomové práce použijte tento formulář, text standardním písmem slouží jako vodítko
- Prosíme školitele o co nejstručnější a nejvýstižnější komentáře k jednotlivým bodům
- 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!