

Posudek oponenta na diplomovou práci

Kateřiny Schrommové

„Membránově aktivní látky a regulace membránové fluidity u *Bacillus subtilis*“

Diplomová práce zkoumá způsoby kontroly fyzikálního stavu lipidové dvojvrstvy membrány. Zabývá se tedy tématem, vycházejícím z myšlenky, že právě tato buněčná struktura řídí fyziologickou aktivitu bakterie. Tématem, jehož nosnost předpověděl již před 30 lety skvělý experimentátor a vynikající pedagog naší katedry, docent Kaprálek. Čas mu dal za pravdu; dokumentují to aktuální publikace potvrzující aktivní úlohu membránové lipidové dvojvrstvy v činnosti buňky prokaryotní či eukaryotní. A otázka regulace struktury a dynamiky membrány není dosud uspokojivě zodpovězena. V předkládané diplomové práci je použito jako prostředků manipulace fyzikálním stavem membrány dvou osvědčených přístupů – chladového šoku a membránově aktivních látek. Dosažené výsledky přinášejí nové poznatky a přispívají k hlubšímu porozumění problému.

Diplomová práce má v souladu s doporučením stavbu klasického původního vědeckého sdělení, nic neschází; od standardní diplomové práce se však ve formálních náležitostech předkládané dílo odlišuje ve dvou ohledech. Jeho rozsah 159 stran připomíná spíše práci dizertační a jeho grafické i jazykové zpracování se blíží dokonalosti. Literární přehled má 38 stran, a je členěný na tři tematické okruhy. Podává velmi zevrubný a přehledný výklad chladového šoku, regulace membránové fluidity a působení látek interagujících s membránou, s použitím rozsáhlé, včetně bohatě zastoupené recentní bibliografie. Materiál a metody -31 stran- jsou napsány přesně a jasně; zahrnují metody kultivační, preparativní a fyzikální, které, jak vyplývá z části Výsledky, autorka zvládla nejen experimentálně, ale i interpretačně, což není jednoduché zejména u metod fluorescenční spektroskopie. Těžiště práce leží v kapitole Výsledky, které jsou uvedeny na 47 stranách, jejich rozsahu odpovídá i Diskuze, častý kámen úrazu diplomových prací, která však v případě předkládané práce naplňuje beze zbytku na 13 stranách jak požadavek zasazení vlastních výsledků do kontextu světové literatury, tak i interpretaci získaných dat. Souhrn na 1,5 straně je střizlivý a přehledný. Diplomová práce cituje v seznamu použité literatury na 11 stranách celkem 189 prací – nejstarší z r. 1974, 8 citací z r. 2007 a 1 z vlastní laboratoře, z r. 2008.

Práce přináší úctyhodný objem precizních výsledků, za kterými se skrývá mimořádná pracovitost diplomantky a veliké množství času stráveného v laboratoři. Velmi jsem ocenila, že kapitola Výsledky formuluje ve svém úvodu jasně cíl práce: „zjistit, zda lze pomocí membránově aktivních látek pozměnit fluiditu membrány tak, aby na tuto změnu reagoval senzor DesK změnou signalizace“. S touto myšlenkou, vytknutou před závorkou pak byl zkoumán postupně účinek teploty na aktivitu promotoru desK, membránově aktivních látek s fluidizačním a rigidizačním účinkem metodou anizotropie fluorescence, dále pak byl měřen fázový přechod lipidů metodou generalizované polarizace sondou Laurdan a poté diferenciální skenovací kalorimetrií v membránách pod vlivem alkoholů a bez nich.

K části Výsledky mám následující otázky a připomínky:

1. otázka: Str. 87 u kmene *B. subtilis* M19 byly stanoveny doby zdvojení T v intervalu 15 – 40°C. Nejkratší T byla zjištěna pro 40°C a byla označena jako optimální. Je to skutečné teplotní optimum a ve vyšší teplotě roste bakterie pomaleji? Pokud by tomu tak bylo, mohlo by dojít již i při drobném zvýšení teploty k tepelnému poškození bakterie.

2. otázka: Str. 105: Pro testování účinku chemických látek byl použit přenos 40 → 20°C, který stimuluje transkripci desK na hodnotu cca 250 MU (Müller Unit). Proč nebyl

použit přenos ze 40 → 25°C, po kterém odpovídá transkripce desK až 500 MU, jak vyplývá z Obr. 39 a 40 na str. 93 a 94?

3. otázka: Str.123, Obr. 59: Přímé přidání AlCl_3 , vedlo k mírnému zvýšení rDPH, tedy k rigidizaci membrány. Zkoušeli jste preinkubaci membrán s Al^{3+} ? Jak je vysvětlován rigidizační účinek Al^{3+} na membránu? Hraje roli spíše velikost a tvar iontu nebo jeho náboj, např. ve srovnání s dvojmocnými kationty?

4. otázka: Jaké vlastnosti membrány by mohly, podle Vašeho názoru, rozhodovat o inaktivaci promotoru desK ve 30°C a současně o jeho aktivaci při 25°C?

Připomínky:

1. V práci je na str.8 Seznam zkratk, ale další seznam zkratk některých chemikálií je v seznamu použitých chemikálií na str. 54 a je nutno se jich dopátrat. Tyto zkratky by neměly chybět na str. 8; v práci by měl být jediný úplný seznam zkratk.

2. Str. 8 v Seznamu zkratk je symbol τ označen chybně jako generační doba, podobně jako na str. 87; prosím opravit. Dále pak $\log P$ není partiční koeficient, ale logaritmus partičního koeficientu

3. Str. 17 ve 2. odstavci je odkaz na kapitolu, ale schází údaj o čísle kapitoly.

4. Str.21 v 1. řádce je místo „v buňce“ překlep „v buče“.

5. Str. 122 je chybně popsána osa x v Obr. 58A

Závěrem lze konstatovat, že diplomová práce kolegyně Kateřiny Schromové je výborná. Je výsledkem soustavného úsilí studijního, metodického i experimentálního. Přináší nová zjištění, kriticky je hodnotí a navozuje další otázky. Navrhuji proto ráda její přijetí k obhajobě.

V Praze, 27.5.2008

Jároslava Svobodová