

Posudek oponenta na diplomovou práci

Jméno oponenta: Mgr. Markéta Pernisová, PhD

Datum: 2.9.2022

Autor: Bc. Štěpánka Kebrlová

Název práce: Role aktinového cytoskeletu při umíst'ování auxinových přenašečů v plazmatické membráně

Cíle práce

1. Připravit markerové linie a zavést kvantitativní postup hodnocení lokalizace auxinových přenašečů a auxinem řízené genové exprese pomocí obrazové analýzy.
2. Analyzovat lokalizaci auxinových přenašečů v pokožce děložních listů *Arabidopsis thaliana* po narušení aktinového cytoskeletu.
3. Analyzovat míru genové exprese řízenou auxinem v pokožce děložních listů rostlin nesoucích mutované podjednotky aktin nukleačního komplexu ARP2/3.

Struktura (členění) práce

Rozsah práce (počet stran): 71

Práce má adekvátní členění kapitol. Český abstrakt, anglický abstrakt, a klíčová slova jsou uvedeny.

Formální úroveň práce

Po formální stránce je práce dobře zpracovaná, včetně obrázků a grafiky.

Seznam literatury dodržuje stejný formát.

Ručně kreslený obrázek (Obr. 7) je hezké zpestření práce.

Logická stavba a jazyková úroveň práce

Práce je napsaná českým jazykem. Text logicky navazuje.

V práci se občas vyskytují překlepy nebo chybí kurzíva, ale v akceptovatelné míře.

Obecně by bylo lepší použít jiný termín než „analýza genové exprese“ s ohledem na to, že jste sledovali změny intenzity signálu reportérů v buňkách. Termín „analýza genové exprese“ se obvykle používá ve spojení s metodikami jako RNA-seq nebo qRT PCR.

Literární přehled:

Přehled literatury odpovídá tématu a je napsán srozumitelně. Správně jsou citovány originální články. V případě přehledových článků by bylo dobré použít i novější práce (nedávno vyšlo druhé vydání knihy o auxinu). V kapitole o auxinové signalizaci by bylo dobré zmínit např. i publikaci Vernoux et al. 2011, doi:10.1038/msb.2011.39., která pojednává o auxinovém signalingu a auxinových reportérech.

Materiál a metody:

Metodika odpovídá použitým experimentům a je přehledně napsaná.

Kultivační podmínky pro pěstování rostlin by stačilo popsat jednou, v první kapitole.

V některých podkapitolách chybí koncentrace použitých chemikálií, např. u PCR.

Experimentální část:

Množství experimentů a výsledků je vzhledem k situaci v minulých letech a časové náročnosti práce s rostlinami adekvátní. Cíle experimentů jsou náležitě vysvětleny. Do kapitoly 4.3.7 by bylo dobré doplnit výsledky nebo ji vynechat.

Diskuze:

Diskuze by mohla mít trochu větší prostor a porovnání s publikovanými daty. Účel první kapitoly v diskuzi není úplně jasný. Zmiňuje *pin* mutanty, ovšem v samotné diplomové práci byly použity *arp* mutanti. Také název kapitoly ne tak docela souvisí s jejím obsahem. V druhé kapitole by bylo vhodné srovnat vaši metodiku pro analýzu auxinových přenašečů s již publikovanými analýzami podobného typu. Např. metody na segmentaci epitelových buněk byly už publikovány.

Závěry (Souhrn):

Závěry jsou dobře formulované, odpovídají cílům práce a jsou podloženy výsledky.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Cíle diplomové práce byly splněny podle zadání. Celkově práce rozvíjí aktuální a zajímavou tematiku funkce auxinu na buněčné úrovni a princip lokalizace auxinových transportérů. Nově zavedená metodika měření intenzity signálu může být prospěšná a využitelná i pro jiné vědecké týmy. Výsledky mají potenciál být v budoucnu součástí kvalitní vědecké publikace.

Otázky a připomínky oponenta (povinná část posudku):

Jak probíhá transport 2,4-D a NAA do buněk a z buněk?
V tabulce 8 máte uvedený rozsah velikostí produktů vzniklých kombinací primerů BP+LP. Primery se obvykle navrhuje tak, aby vznikl jeden produkt pro danou kombinaci primerů (jedna velikost). Můžete to vysvětlit? Co jste viděli na gelu?
Jak jste vizualizovali DNA v gelu při elektroforéze?
Je nějaký důvod, že jste vybrali jako reportér auxinové signalizace R2D2? Máte v plánu přidat i DR5? Můžete zdůvodnit, proč jste křížili i linie DII a mDII, když máte k dispozici linii R2D2?
Obr. 15 B: Barvička FM4-64 není vidět v membránách mutantu *arpc5*. Je obrázek reprezentativní? Je toto fenotyp mutantu? Mohla byste to okomentovat?
Můžete navrhnout metodu, kterou byste zjistila hladinu auxinu v buňkách?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: