

Posudek oponenta na diplomovou práci
Jméno oponenta: RNDr. Jana Knoppová, Ph.D.
Datum: 7.9.2016
Autor: Václav Svoboda
Název práce: Role of PsbO isoforms in <i>Arabidopsis thaliana</i> Role izoformem PsbO v <i>Arabidopsis thaliana</i>
Cíle práce 1) Comparison of <i>psbo1</i> and <i>psbo2</i> mutants regarding to thylakoid structure 2) Find out what is the distribution of PsbO isoforms among thylakoids subcompartments and how the distribution changes after exposure to light stress
Struktura (členění) práce Rozsah práce (počet stran): 92 Je uveden anglický i český abstrakt a klíčová slova? Ano
Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, seznam literatury) Celkově velmi dobrá. Ze zanedbatelných drobných chyb v textu stojí za zmínku jen záměna správného lumenal za luminal , způsobená pravděpodobně textovým editorem.
Logická stavba a jazyková úroveň práce Velmi dobrá, bez připomínek
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
Materiál a metody: Šíře použitých metodik. – Podle mého názoru převyšuje nároky na diplomovou práci. Odpovídají popsané metody prezentovaným výsledkům? Ano Jsou metody srozumitelně popsány? Ano
Experimentální část: Je vysvětlen cíl experimentů? Ano Je dokumentace výsledků adekvátní? Ano Je množství provedených experimentů dostačující? Ano, některé experimenty by však stálo za to prohloubit pro lepší výpovědní hodnotu.
Diskuze: Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? Autor diskutuje své výsledky vzhledem k relevantní literatuře, předkládá vlastní možná vysvětlení a hypotézy. Jsou výsledky porovnávány s literaturou? Ano Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? Ano
Závěry (Souhrn): Jsou závěry podloženy výsledky? Ano Jsou výstižně formulovány? Ano

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

1) Srovnání mutantů *psbo1* a *psbo2* vzhledem ke struktuře thylakoidů, tj. zastoupení jednotlivých subkompartmentů (granální centra a okraje, stromální lamely), nebylo úspěšné pro nedostatek experimentálního materiálu u mutantu *psbo1*, porovnáván byl WT a *psbo2*. Vzhledem k omezené době pro řešení DP toto nevytýkám, i když by právě analýza mutantu *psbo1* byla vzhledem k jeho výraznému fenotypu zajímavá.

2) Distribuce izoform PsbO mezi thylakoidními subkompartmenty včetně změn po krátkodobém vystavení světelnému stresu byly odpovídajícím způsobem řešeny, vyhodnoceny a diskutovány především vzhledem k hypotetické úloze izoformy PsbO₂ v opravě fotosystému II.

Práce je formálně i věcně velmi dobře zpracovaná, využívá širokou škálu metod molekulární biologie, rostlinné fyziologie a biochemie, takže poskytuje diplomantovi kvalitní průpravu pro budoucí práci v experimentálních biologických oborech. Diskuse je inteligentní a logická, poskytuje podněty pro další práci. Zvolené centrální téma, t.j. vztah mezi lokalizací izoform PsbO v subkompartmentech thylakoidů a předpokládanou funkcí, nebylo dosud zpracováno a je poměrně obtížné. Výsledky ukazují malé, ale signifikantní relativní zvýšení množství PsbO₂ v granálních okrajích ve srovnání s granálními centry po vystavení vysokému světlu. Tento nálezný by mohl být další indicií pro předpokládanou úlohu této izoformy v opravě PSII, neboť předchozí studie naznačují, že k hlavním dějům tohoto procesu dochází právě v rozvolněných okrajích granálních thylakoidů.

Otázky a připomínky oponenta:

1) str. 58, 63: Popis komplexů separovaných BN je pravděpodobně přejet z literatury, není však ocitován. Dále, použití BN separace pro zjištění případných změn v zastoupení subpopulací PSII nemá samo o sobě velkou výpovědní hodnotu, protože v tomto systému lze PSII jen těžko vizuálně odlišit od dalších thylakoidních komplexů, se kterými se překrývá. Mohl by se diplomant zamyslet, jakými metodami nebo jejich kombinacemi by se tento problém lépe vyřešil?

2) str. 58: Pro BN je vhodné stanovit koncentraci chlorofylu v supernatantu po solubilizaci a podle toho spočítat objem nanášeného vzorku. Tím se předejde problémům s nerovnoměrným nanášením různých vzorků spojeným se ztrátou nesolubilizovaného materiálu v peletu.

3) str. 61 a 65: Zastoupení GM je ve srovnání s GC nápadně vysoké, v práci Puthiyaveetil et al. (2014) je u DA vzorků zhruba poloviční, to mi připadá reálnější. Nemohlo dojít ke kontaminaci frakcí SL?? Také poměr chl a/b by tomu napovídal. Jsou nějaké spolehlivé markery pro jednotlivé frakce?

4) str. 65: Na rozdíl od výše citované práce byla zjištěna jen nevýznamná změna poměru mezi GC a GM po působení HL. Nemůže to souviset s různými experimentálními systémy? (Put. et al. (2014) vystavovali světelnému stresu protoplasty, vypracujete s celou rostlinou!)

5) str.73: Horní signál PsbO se ze zkušenosti spíš jeví jako produkt oxidace (migruje jako protein o větší MW). Po expozici na HL je oxidace pravděpodobná a může se zvýraznit i v průběhu zpracování vzorku. Objevily se oba bandy i v TH, které byly použity pro srovnání ve Fig33? (- Bloty TH nejsou v práci ukázány.)

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

x výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: