



Marek Cebecauer, PhD
Academy of Sciences of the Czech Republic
J. Heyrovský Institute of Physical Chemistry, v.v.i.
Dolejškova 2155/3, 182 23 Prague 8, Czech Republic
VAT Nr. CZ61388955
Phone: (+420) 26605 3733
Fax: (+420) 28658 2307, e-mail: marek.cebecauer@jh-inst.cas.cz

09 August 2017

Úvodom by som rád zhrnul, že práca Mgr. Jakuba Záhumenského s názvom *Characterisation of native and heterologously expressed membrane transporters in yeast using fluorescent probes* obsahuje všetky predpísané časti dizertačnej práce, adekvátne citácie (množstvo aj vhodnosť), ako aj zanedbateľný počet chýb (typing errors). Je rozdelená na Teoretický úvod, Materiál a metódy, Výsledky s diskusiou a Závěry. Na konci sú zaradené citácie, zoznam obrázkov a tabuliek a v neposlednom rade sú pripojené dva povodné články a abstrakty z konferencií. Aj keď celkový rozsah práce mi pripadá rozumný, v dizertačnej práci by som si predstavoval väčší rozsah diskusie. Tá je síce spojená s výsledkami v sekcii Výsledky a diskusia, ale hlbšie úvahy o dosiahnutých výsledkoch by ešte skvalitnili dielo, ktorým má končiť štúdium potenciálneho doktora prírodných vied (Ph.D). Práca je tiež tematicky rozdelená do dvoch častí: i) štúdium krátkych lineárnych alkoholov na funkciu multidrug resistance pumps Pdr5p a Snq2p, a ii) vplyv draslíkoveho kanálu Tor1p na membránový potenciál kvasiniek. Obe časti sú rozumne prepojené, obsahujú veľké množstvo výsledkov, ktoré boli dosiahnuté použitím širšieho spektra experimentálnych techník a sú kvalitne spracované (napr. Obrázky) a vyhodnotené (závery).

Vzhľadom na jazyk predloženej práce (angličtina), moje špecifické komentáre a návrhy k zamysleniu prikladám na koniec tejto správy v jazyku anglickom.

Záverom by som rád doporučil túto prácu k obhajobe a udeleniu titulu Ph.D.

S pozdravom,

Marek Cebecauer, Ph.D

Comments and notes:

Major comment:

1. The use of diS-C3 (simplified name) fluorescent probe in spectroscopic assay is critical for the whole work. Even though certain clarification is provided in section 3.2.1, a detailed description of the technique, including schemes and illustrations depicting changes in spectrum of the probe would help reader (and especially an evaluator) to understand the text and graphs in the section Results and Discussion. A

person who did not work with this probe can be a bit confused without reading original articles authored by the supervisor but not the student. A PhD thesis should be comprehensive enough to understand all critical results. I find sections 1.5.2 and 2.2.2 which should describe basic principles and experimental details, respectively, rather brief.

For consideration or discussion:

2. Could use of electrochromic probe (e.g. ANNINE-6plus) help interpretation of the data achieved using di-S-C3 probe? Electrochromic probes are very rapid in providing information on their local environment (page 76: ... relatively slow redistribution of the diS-C3 probe ...).
3. Could use of well adjusted flow cytometry help by providing single cell information and good statistics? The presented data represent average values over a number of cells. Any heterogeneity may reduce the observed changes.
4. The most of the graphs are showing $\lambda(\text{max})$ but intensity varies between the samples (e.g. page 75: ... unequal amounts of diS-C3 probe accumulated in the cells ...). Would presentation of dot-plots showing intensity vs $\lambda(\text{max})$ be useful for the readers and interpretation of the data?

Minor comments:

5. Detergent resistant membranes are mentioned here as an artefact (page 12?). This technique is very useful for biochemists determining properties of membrane proteins. It is more misuse of the technique to describe cell membranes which is inappropriate.
6. Page 28: ... a plethora of methods for measurements of membrane potential ... - citation(s) missing.
7. Page 11, rather unusual sorting of protein into three groups. This is according to? Please, add citation. What about some lipid anchored proteins – e.g. palmitoylated kinases?
8. Technical comment: Splitting of Fig.3.3 into two parts looks very inconvenient to me. Two separate figures would be less confusing.