

## Posudek oponenta na diplomovou práci

Jméno oponenta: RNDr. Michal Hála, Ph.D.

Datum: 25.6.2020

**Autor: Bc. Hana Štočková**

**Název práce: Funkce transportéru AtKUP5 v *Arabidopsis thaliana***

### **Cíle práce**

Cíle práce jsou v úvodu jasně definované, jsou přiměřené tomuto typu práce a splnitelné, přitom dostatečně ambiciózní.

### **Struktura (členění) práce**

Rozsah práce (počet stran): 85 stran textu včetně citací

Práce je standardně členěna, obsahuje český i anglický abstrakt, stejně tak i klíčová slova. Členění kapitol na podkapitoly je přehledné a podkapitoly za sebou následují v logickém sledu.

### **Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, seznam literatury)**

Formální úroveň práce je velmi dobrá, text, obrázky, grafy a tabulky na sebe vhodně navazují. Grafy, obrázky i tabulky jsou řádně popsány a je na ně řádně odkazováno v textu. U mikrofotografií je řádně uvedeno měřítko, stejně tak u ostatních fotografií. Seznam literatury je jednotný a namátkovou kontrolou jsem nezjistil rozdíly mezi citacemi v textu a v seznamu literatury.

### **Logická stavba a jazyková úroveň práce**

Logická stavba práce je v pořádku, práce je psaná jasně čtivou formou, až na část výsledků popisujících statistické vyhodnocení výsledků pěstování WT a *kup5* mutanta za různých podmínek, kde jsem se často ztrácel. Bylo by vhodné najít lepší grafické vyjádření (grafy 1-24).

Jazyková úroveň práce je taktéž velice dobrá s minimem chyb a překlepů. Ojedinelou chybičkou je například nesprávný překlad názvu auxinu v seznamu zkratk, správně česky je to kyselina 3-indolyloctová.

### **Literární přehled:**

Literární přehled je přiměřený tématu, je logicky členěn od obecnějších věcí postupně k jádru věci. Mám zde pouze ojedinelé výhrady. Např. při první zmínce o funkci transporteru HAK5 (str. 1) by měla následovat citace. Později v textu již citace k HAK5 jsou. Také nepovažuji za šťastně zvolený obr. 3, který postrádá podrobnější legendu, bez níž je značně nesrozumitelný, a v textu také není význam jednotlivých klastrů tohoto fylogenetického stromu příliš akcentován.

### **Materiál a metody:**

Šíře použitých metodik je adekvátní práci, metody jsou popsány velmi podrobně až na statistickou analýzu dat, což práci v některých fázích znepréhledňuje. Ojedinelou chybou je uvedení KCl jako zdroje draslíku v deficientních médiích (str.21) zatímco v tabulce 7 je

uveden KI.

### **Experimentální část:**

Experimentální část je rozdělena do několika bloků, tak jak jsou členěny cíle práce.

V první části je představena inzerční linie. Tady je třeba připomenout, že pro publikační účely je většinou vyžadována sekvenace rozhraní mezi genem a inzercí, aby byla potvrzena lokalizace v konkrétním genu, dále analýza transkriptů např. pomocí RT-PCR a také komplementace případné fenotypové odchylky. Ačkoli to ještě nebylo provedeno, autorka to na různých místech zmiňuje jako plán do budoucnosti.

V další části autorka porovnává růstové charakteristiky mutanta *kup5* a příbuzného WT. Zde mi chybí odkaz na práci, kde je prokázáno, že 1.5% agar vyvolává osmotický stres. Další moje výtka se týká zpracování výsledků obou experimentů. Ačkoli trendy jsou jasné, jen u mála případů je nalezen statisticky signifikantní rozdíl mezi WT a mutantem v jednotlivých variantách opůsobení. Nepomohlo by navýšení počtu proměřených rostlin? Navíc není jasné, jaké parametry měl autorkou použitý test (Mann-Whitney U) pro stanovení signifikance. K tomu ještě poznámka – myslím si, že v grafu č.7 u poslední varianty (30 uM K<sup>+</sup>, 1,5% agar) by vzhledem k chybovým úsečkám signifikance být neměla. Nebo ano? Také jsem nepochopil, jaké výstupy přináší využití metody GLM ANOVA např. v porovnání s BMC testem. Mohla by mě autorka pár větami během obhajoby přesvědčit, že je skutečně její použití na místě a zejména jak byly výsledky touto metodou zpracovávány a interpretovány. Narážím zejména na fakt, že v textu se na str. 44 píše, že vliv nízkého obsahu K<sup>+</sup> nebyl signifikantní ( $p > 0,05$ ), ale u grafů 8-12 je hodnota pro varianty  $p < 0,001$ . Šlo o jinou analýzu? Nepomohlo by lepší grafické vyjádření výstupů GLM ANOVA?

V poslední části se autorka věnuje lokalizaci proteinu KUP5 v buňce a analýze jeho exprese v rostlinách. Škoda, že pro tyto analýzy nebyly využity kultivace na deficientním médiu, což si ale autorka uvědomuje a zmiňuje v diskusi. K této části práce nemám větších výhrad, jen bych zmínil interpretaci srovnání lokalizace KUP5 a RFP-HDEL (obr 32.). Vzhledem k tomu, že to nebylo snímáno v jedné rostlině resp. jedné buňce, nelze na základě tohoto obrázku považovat kolokalizaci KUP5 a ER za prokázanou (spíše pravděpodobnou).

### **Diskuze:**

Diskuse je skutečně diskusí, zejména v první části, kde autorka diskutuje výsledky měření růstových parametrů a srovnává je s publikovanými daty. Ve druhé části, týkající se lokalizace proteinu a jeho exprese, jakoby se autorka vyčerpala a omezuje se pouze na úvahy o možných zdrojích problémů a plány do budoucna. Jako ojedinělou chybu zmiňuji absenci citace u konstatování přítomnosti AC aktivity na N konci KUP5 (str. 75), která ale jinde v textu je.

### **Závěry (Souhrn):**

Závěry jsou formulovány výstižně a odpovídají prezentovaným výsledkům.

### **Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

Cíle práce byly dle mého mínění splněny, byť některé klíčové experimenty stále čekají na své uskutečnění. Celkově jsem s prací spokojen a vzhledem k tomu, že jde pravděpodobně o první experimentální publikaci autorky, ji hodnotím jako zdařilou.

**Otázky a připomínky oponenta (povinná část posudku):**

Kromě již zmíněné otázky ohledně statistiky mám ještě následující otázky:

Jak jinak než pomocí fúze fluoroforu by se dala studovat lokalizace KUP5 v buňce?

Používají se ve studiu vlastností a lokalizací transportérů  $K^+$  elektrofyziologické metody, např. patch-clamp?

**Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)**

výborně    velmi dobře    dobře    nevyhověl(a)

Podpis oponenta:

RNDr. Michal Hála, Ph.D.