

## Posudek oponenta na diplomovou práci

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

Datum: 19.5.2021

**Autor: Bc. Pavel Krupař**

**Název práce:**

**Úloha lipidů a enzymů metabolizujících lipidy v procesu autofagie u rostlin**

**Cíle práce**

Cíle práce jsou na začátku jasně definovány a za určitých podmínek byly splnitelné, ale myslím, že mohly být, zejména ten třetí, modifikovány vzhledem ke skutečně dosaženým výsledkům.

**Struktura (členění) práce**

Rozsah práce (počet stran): 64 stran textu a obrázků

Je uveden anglický i český abstrakt a klíčová slova? Ano

Z hlediska členění je práce standardní a nemám větších výhrad, snad jen experimentální data uvedená v příloze měla být včleněna do hlavního textu. Rozsah jednotlivých kapitol je vyvážený a odpovídá tomuto typu práce.

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

Formální úroveň práce je velice dobrá s minimem překlepů, nechtěných přesunů textu či zkomolení. Obrazová dokumentace je v dobré kvalitě, všechny obrázky a grafy obsahují všechny náležitosti a jsou řádně popsány. Odkazy na obrázky v textu souhlasí s obsahem obrázků.

**Logická stavba a jazyková úroveň práce**

Logická stavba práce je velmi dobrá, jednotlivé části na sebe navazují a není potřeba pro porozumění přeskakovat. Práce je psaná dle mého soudu solidní angličtinou bez zjevných hrubých chyb a jako nerodilý mluvčí nebudu posuzovat jemné nuance.

**Literární přehled:**

Literární přehled se autorovi podle mého soudu povedl. Není jednoduché zpracovat tak rozsáhlé téma jako je autofagie u rostlin na omezené ploše. Po počátečním představení základních konceptů autofagie se autor rychle dostal k tomu, co je hlavním tématem práce tj. roli lipidů v autofagii. Literární přehled obsahuje relevantní citace, vesměs recentní, které jsou správně použity, a namátkovou kontrolou jsem nezjistil žádné nesrovnalosti se seznamem literatury. V této části mám pouze jednu výhradu, pro lipidová tělíčka bych nepoužil označení organely (str.19).

**Materiál a metody:**

Šíře použitých metodik je dostatečná, a přestože autor nakonec pravděpodobně nemohl rozvinout potenciál všech metodik naplno, troufám si tvrdit, že je zvládl. Jednotlivé metody jsou popsány jasně a srozumitelně se dvěma výjimkami. Moje první výhrada se týká kapitoly

3.5. ( a před tím i 3.4.) tj. měření přírůstku primárního kořene. Vzhledem k tomu, že se měří přírůstek a ne délka, mělo by se tak dít mezi dvěma časovými body. Ačkoli druhý časový bod (tj. konečný) je na několika místech textu jasně definován, definice počátečního bodu mi v textu chybí. A na tomto místě položím i otázku. Mohla by volba počátečního bodu (např. před temnostní fází vs. po temnostní fází) mít vliv na interpretaci výsledků? Moje druhá připomínka se týká kapitoly 3.8. K analýze aktivity enzymů modifikujících fosfolipidy byla použita cytosolická frakce. Lze odhadnout, z vašich zkušeností či z literatury, jaká část enzymů metabolizujících membránové lipidy zůstala případně vázaná v mikrosomální frakci?

#### **Experimentální část:**

Všechny experimenty jsou dostatečně zdůvodněny a prezentace dat je jasná a srozumitelná. Přesto i zde mám několik připomínek. První se týká kapitoly 4.1. (obrázků 9 a 10). Tyto grafy zobrazují přírůstek primárního kořene v různých mutantech a mají dokumentovat jejich vztah k autofagii. Přesto jsem nenašel výsledky kontrolního experimentu bez temnostní periody a nelze tak, z mého hlediska, spojit případné odchylky nepochybně s indukcí autofagie, mohlo by jít prostě o to, že mutant roste obecně pomaleji. Další moje výtky směřuje ke statistickému zhodnocení uvedených dat (obr. 9 a 10). Zkuste během obhajoby obhájit, proč jste použil t-test a ne např. analýzu variance?

Další moje připomínka směřuje k vizualizaci autofagosomů. Sama metoda je v pořádku, ale po dvouhodinové indukci budete pozorovat spíše nespecifickou část odpovědi. V literatuře je popsáno, že v takto rané fázi odpovědi je v kořeni přítomno velké množství reaktivních forem kyslíku. Mohl by zvýšený počet autofagosomů reagovat na přítomnost ROSů spíše než na samotnou nutriční deficienci? Změnilo by to interpretaci výsledků experimentu?

#### **Diskuze:**

Diskuse patří opět mezi zdařilé kapitoly, autor zde srovnává své výsledky s literaturou, použité citace jsou recentní a relevantní. Trochu tu chybí nějaké hypotézy či výhledy do budoucna, ale to neubírá této kapitole na kvalitě.

#### **Závěry (Souhrn):**

Závěry jsou výstižné a jsou podpořeny experimentálními daty.

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

Tato práce vznikala v mimořádné době a je to na ní vidět. Některé experimenty nebyly dotaženy do konce či nebyly opakovány tak, aby bylo možné udělat signifikantní závěry. Přesto si myslím, že Pavel Krupař se něco naučil a předvedl, že umí napsat vědecký text. Cíle práce definované na počátku považuji za trochu příliš ambiciózní, ale přesto práce alespoň částečně přispěla k jejich naplnění. Vzhledem k výše uvedeným připomínkám se sice přikláním ke známce velmi dobře, ale pokud autor obhájí své postupy, jsem připraven souhlasit i se známkou výborně.

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

Kromě otázek již položených v textu výše mám ještě tyto dotazy:

Uvádíte, že autofagie je cestou metabolizující lipidová tělíska (lipid droplets). Jaký je další osud mastných kyselin v lytických vakuolách, kde tato tělíska končí?

Existuje nějaký mechanismus, který by měnil dosažitelnost PE v membráně a tím, přes ovlivnění konjugace a ATG8, ovlivňoval autofagii?

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

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta:

Pozn. Obvyklá délka standardního posudku je cca 2-3 strany.

**Instrukce pro vypracování a odevzdání posudku-po dokončení posudku možno tyto instrukce smazat:**

- Pro vypracování posudku diplomové práce použijte tento formulář, text standardním písmem slouží jako vodítko
- Posudek můžete sami vložit do SIS, anebo s předstihem zaslat v elektronické podobě na adresu: [hana.konradova@natur.cuni.cz](mailto:hana.konradova@natur.cuni.cz) a [lipavska@natur.cuni.cz](mailto:lipavska@natur.cuni.cz), a dále zajistit dodání podepsaného originálu (v 1 výtisku, jako součást protokolu o obhajobě) na sekretariát Katedry experimentální biologie rostlin PřF UK (p. Elena Kozlová), Viničná 5, 128 44 Praha 2. Podepsaný originál posudku musí být dodán před vlastní obhajobou, bez něho nesmí být obhajoba zahájena!