

Posudek práce

předložené na Matematicko-fyzikální fakultě
Univerzity Karlovy

- posudek vedoucího posudek oponenta
 bakalářské práce diplomové práce

Autor/ka: **Bc. David Babuka**

Název práce: **Analýza zotavování membránového potenciálu kvasinek za stresových
podmínek vyvolaných protonoforem CCCP**

Studijní program a obor: Biofyzika a chemická fyzika [FBCHF]

Rok odevzdání: 2016

Jméno a tituly vedoucího/oponenta: prof. RNDr. Jaromír Plášek, CSc.

Pracoviště: MFF, Fyzikální ústav UK

Kontaktní e-mail: plasek@karlov.mff.cuni.cz

Odborná úroveň práce:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Věcné chyby:

- téměř žádné vzhledem k rozsahu přiměřený počet méně podstatné četné závažné

Výsledky:

- originální původní i převzaté netriviální kompilace citované z literatury opsané

Rozsah práce:

- veliký standardní dostatečný nedostatečný

Grafická, jazyková a formální úroveň:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Tiskové chyby:

- téměř žádné vzhledem k rozsahu a tématu přiměřený počet četné

Celková úroveň práce:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Slovní vyjádření, komentáře a připomínky vedoucího/oponenta:

Hlavním impulzem pro zadání této diplomové práce byly připomínky oponentů k rukopisu publikace pracovníků oddělení biofyziky FÚUK, která se týkala vlivu draslíkového kanálu Tok1p na membránový potenciál kvasinek *S. cerevisiae* za stresových podmínek vyvolaných protonoforem CCCP. Brzy po zahájení experimentů se však ukázalo, že obecně akceptovaný předpoklad týkající se údajné schopnosti CCCP vyrovnat cytosolické pH kvasinek na hodnotu pH jejich vnějšího prostředí je pravděpodobně chybný. Doporučil jsem proto diplomantovi, aby se místo původně plánovaného zotavování membránového potenciálu a pH cytosolu po aplikaci CCCP zaměřil na studium samotného mechanismu acidifikace buněk touto slabou kyselinou.

Nečekaným a velmi cenným výsledkem tohoto úsilí je zjištění, že analýza titračních křivek závislosti acidifikace cytosolu na pH vnějšího prostředí umožňuje odhadnout lokální periplasmatické pH na povrchu plasmatické membrány kvasinek. Tato metoda byla již popsána v práci Plášek, J., Babuka, D. et al. „A novel method for assessment of local pH at the periplasmic side of yeast plasma membrane“, která byla odeslána do časopisu Scientific Reports (Nature Publishing Group) a je v současné době ve fázi posuzování revidované verze reagující na připomínky recenzentů. Zmíněná metoda bude také prezentována prof. Hoeflerem z Univ. Bonn jako společný příspěvek na konferenci 34th SMYTE. Dalším významným výsledkem experimentů provedených D. Babukou je vyvrácení chybného předpokladu, že CCCP dokáže srovnat intracelulární a extracelulární pH kvasinek. Odhaduji, že práce týkající se tohoto zjištění bude odeslána do zatím nevybraného časopisu do konce září.

Rád bych v této souvislosti zdůraznil, že experimentální výsledky, které jsou základem výše uvedených publikací, jsou jednoznačnou zásluhou D. Babuky, který dokázal samostatně realizovat (samozřejmě na základě předcházejících konzultací a detailního definování experimentálních protokolů) časově náročné titrační a koncentrační série acidifikačních experimentů, které vyžadovaly velkou míru samostatnosti podloženou extrémní pečlivostí a v neposlední řadě i značnou experimentální zručností. Doporučil jsem proto diplomantovi, aby i v textu diplomové práce explicitně uvedl, že během 6 měsíců bylo změřeno více než 1800 spekter ze zhruba 900 buněčných suspenzí připravených z cca 80 buněčných kultur. Také jsem mu doporučil, aby v diplomové práci prezentoval zejména finální výsledky ve formě vhodné pro publikování v odborných časopisech, bez balastu grafů z experimentů, kterými jsme museli provést, než se podařilo dospět k přesvědčivým reprodukovatelným výsledkům.

Práce je sepsána stručným způsobem, obsahuje však všechny zásadní informace potřebné pro pochopení použitých experimentálních metod a dosažených výsledků. Její formální úroveň je velice solidní. Z hlediska jazykového pouze trochu trpí zbytečným užíváním zájmen tento, toto a pod.. Překlepů je v ní minimální množství, avšak pouze jeden z nich je mírně matoucí: viz str. 3, 4. řádek shora, kde má být „různě velký“ místo „opačný“ náboj.

Vzhledem ke kvalitě původních vědeckých výsledků a jejich potenciálnímu dopadu na další používání protonoforu CCCP v experimentech s kvasinkami doporučuji tuto diplomovou práci k obhajobě.

Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze: nemám

Práci

doporučuji

nedoporučuji

uznat jako diplomovou/bakalářskou.

Navrhuji hodnocení stupněm:

výborně velmi dobře dobře neprospěl/a

Místo, datum a podpis vedoucího/oponenta: