

## Posudek oponenta

**Autor práce: Tereza Vojtková**

**Název práce: Regulace auxinové rovnováhy na subbuněčné úrovni**

**Typ práce\*: diplomová**

**Jméno oponenta práce: Petre Dobrev**

	Kritérium hodnocení	Hodnocení						nelze hodnotit
		A	B	C	D	E	F	
1	rozsah práce, vyváženost rozsahů jednotlivých částí a jejich strukturovanost	X						
2	kvalita literární rešerše (např. množství použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru)	X						
3	naplnění cílů podle zadání práce a poznatků z literární rešerše	X						
4	správnost a úplnost legend u obrázků a tabulek (např. srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)		X					
5	správnost používání citačních odkazů (např. přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací)		X					
6	výstižnost souhrnu práce v českém a anglickém jazyce	X						
7	grafická úprava textu a obrázků	X						
8	jazyková a stylistická úroveň, respektování platné nomenklatury a terminologie	X						
9	volba vhodných experimentálních metod	X						
10	srozumitelnost a výstižnost popisu používaných metod	X						
11	úroveň zpracování experimentálních dat		X					
12	adekvátnost interpretace dílčích experimentálních dat		X					
13	diskuze (souhrn získaných výsledků a jejich začlenění do kontextu dosavadního výzkumu)	X						

Poznámka 1: Pokud charakter práce nedovoluje použít některé z Kriterií hodnocení, použijte sloupec "nelze hodnotit"

Poznámka 2: Hodnocení křížkujte

Poznámka 3: Do výsledné známky se započítávají jen hodnotitelné položky

\* - doplňte „bakalářská“ nebo „diplomová“

<b>Známka</b>	A
---------------	---

**Konkrétní připomínky a dotazy (možno připojit samostatný list), slovní zhodnocení proč oponent hodnotil tímto způsobem (zejména při horším známkování)**

- uvedeno na další straně.

## Konkrétní připomínky a dotazy

Ve své diplomové práci se Tereza Vojtková pokusila charakterizovat endogenní distribuci rostlinného hormonu auxinu (kyselina indolyl-3-octová, IAA), včetně jeho prekurzorů a hlavních metabolitů v jádrech rostlinných buněk. Samo o sobě, je toto velmi nelehký úkol, a to zejména vzhledem k potřebě zajistit účinnou a robustní separaci buněčných organel, a následně zajistit dostatečné množství a kvalitu pro analytické stanovení pomocí LC-MS/MS. Byly použity a srovnávány dvě základní metody izolace organel, tzv. „biochemická“ a metoda založená na sortování organel pomocí fluorescence (FAOS). Vhodnost metodik byla sledována pomocí mikroskopů, a prostřednictvím imunodetekce organel-specifickými proteiny. Následovala analýza pomocí LC-MS/MS, která ukázala, že ve dvou experimentálních rostlinných modelech ( Arabidopsis - Ath-Ler, a tabák - BY-2) převládá aktivní auxin (IAA) a jeho prekurzory, zatímco deaktivující metabolity byly zastoupeny v menší míře. Vnitrobuněčná re-distribuce a homeostáza byly dodatečně ověřeny exogenní aplikací auxinu a jeho prekurzoru.

Hlavním cílem diplomanta, je naučit se stěžejní kroky vědeckého bádání, tj. nastolit si určitý zatím nevyřešený vědecký problém, seznámit se co nejlépe s fakty, které o něm byly publikovány, nastolit si konkrétní cíle vedoucí k jeho vyřešení, pokusit se je vyřešit, a seznámit (nejen) vědeckou veřejnost se svými výsledky. Myslím, že v tom ohledu Tereza Vojtková obstála. Její diplomová práce je dobře uspořádána, nechybí cíle, rozsáhlý a aktuální literární přehled, použité metody, výsledky, diskuze a závěr. Věřím, že tato práce obohatila diplomantku jak teoreticky tak i prakticky o metodické postupy jako: izolace organel, průtoková cytometrie, mikroskopie, SPE příprava vzorků, analýza pomocí LC-MS/MS atd. Diplomovou práci Terezy Vojtkové hodnotím jako výbornou.

Mám následující připomínky a otázky:

### **Zaměřila jste se na auxiny v buněčných jádrech. Dají se využít Vámi testované izolační metody i pro další organely?**

Na straně 3 píšete: „ (Syntetické auxiny) Jsou často chemicky stabilnější než přirozené auxiny. Přesto mohou být inaktivovány, a to konjugací s glukózou.“

### **Jsou známé i jiné konjugáty syntetických auxinů?**

Strana 7: „ V rostlinách se nacházejí i neaktivní konjugáty IAA, což jsou pravděpodobně intermediáty její degradace (Woodward et Bartel, 2005).“

### **Které IAA konjugáty jsou neaktivní, a které aktivní?**

Strana 7: Odstavec 3.2.3 Degradace indol-3-octové kyseliny.

### **Jsou kromě OxIAA, známé i jiné oxidační formy na indolovém jádře?**

Na několika místech v diplomové práci (str. 36, 40, 47) došlo k záměně jednotek fmol a pmol. Např.: str.36: „V největší míře byl u AthLer detekován Trp (desítky fmol/1 milion jader), pak IPya (stovky pmol/1 milion jader) a dále ANT a IAA (desítky pmol/1 milion jader) a oxIAA, ty však v zanedbatelném množství (jednotky pmol/1 milion jader) (Obr. 7 Ch).“

### **Která jednotka je větší?**

### **Jaký byl nejmenší počet jader, který bylo nutné izolovat na prokazatelné změření obsahu auxinů?**

Na straně 48 píšete: „ Nicméně jeden milion sortovaných jader v tomto případě zhruba odpovídá jednomu ml. „

Myslím, že jeden milion jader (d=20µm) má výrazně menší objem než 1 ml. Prosím o vysvětlení/komentář.

## **Závěr: práci doporučuji k obhajobě**

V Olomouci dne:

21.5.2018

Podpis:

