

Posudek oponenta na disertační práci Jakuba Masaryka

Trk1 potassium importers, key transport systems for yeast cell fitness and stress tolerance

Disertační práce Mgr. Jakuba Masaryka přináší zajímavé vědecké výsledky, vyniká pečlivostí zpracování a svědčí o velkém pracovním nasazení autora.

Jádrem anglicky psané práce jsou čtyři publikace, vždy uvedené stručným shrnutím dosažených výsledků a popisem konkrétního podílu autora. Výsledkové části předchází pečlivě zpracovaný přehled literatury a celou práci uzavírá podrobná diskuse. Jak literární přehled, tak diskuse svědčí o autorově hluboké znalosti tématu.

Práce se dobře čte jednak díky autorově stylu, jednak díky logické koncepci, na níž byl jeho výzkum založen. Práce se soustředí na komplexní charakteristiku draslíkového transportéru Trk1 v kvasinkách od jeho strukturních a kinetických vlastností přes možnosti jeho regulace až po fyziologickou roli, kterou tento přenašeč hraje za různých podmínek. Poslední část je pak věnována orthologu Trk1 v jiném biotechnologicky významném druhu kvasinek, *Kluyveromyces marxianus*. Vnitřní logická struktura a jazyk práce usnadňují čtenáři orientaci v celém příběhu Trk1.

Ze čtyř uvedených prací byly dvě publikovány v mezinárodních impaktovaných časopisech, přičemž u jedné z těchto dvou je Mgr. Masaryk uveden jako první autor. Druhé dvě práce jsou v disertaci ve formě manuskriptu. Předpokládám, že jejich další osud bude popsán během obhajoby. U čtvrté práce je uvedeno, že vznikla ve spolupráci několika laboratoří, ale není jasné, kdo konkrétně jsou její autoři. Toto je moje jediná formální výtka k disertaci Mgr. Masaryka a předpokládám, že věc bude během obhajoby vyjasněna.

První z prací charakterizujících Trk1 je poměrně rozsáhlá a publikace v Journal of Fungi, jejímiž autory jsou pouze disertant a jeho školitelka. Disertant se na projektu podílel ve všech jeho rovinách, od návrhů experimentů přes jejich provedení až po sepsání publikace. Ačkoli jsou všechny čtyři publikace zajímavé, za vědecky nejdůležitější považuji právě tuto první. Autorovi se podařilo ukázat, že Trk1 „nepřepíná“ mezi nízko- a vysokoafinitním modem, jak se myslelo, ale že změna afinity vůči přenášeným iontům je postupná. Autor zavádí pojem „affinity adjustment“, který lépe odpovídá realitě než dosud používaný „affinity switch“. Kromě toho analyzoval vliv mutací v některých částech Trk1 na jeho lokalizaci a celkovou fyziologii buněk.

K této práci mám otázku: Uvádíte, že v literatuře jsou buňky *S. cerevisiae* pro studium Trk1 vystaveny hladovění na draslík po dobu 3 hodin. Můžete zhodnotit, zda optimalizace doby hladovění přispěla k pozorování, že afinita není „přepínána“ mezi nízko- a vysokoafinitním modem, ale podléhá postupným změnám?

V posledním experimentu této publikace (vliv přítomnosti prolinu v jednotlivých helixech na lokalizaci Trk1) jste nechali buňky hladovět na draslík po tři hodiny. Jaký to mělo důvod?

Druhá práce, manuskript připravený k podání, se zabývá především rolí proteinu 14-3-3 v regulaci Trk1.

Třetí publikace (Dušková et al., 2021) vyšla v časopise Microbiology a pojednává o roli kvasinkových draslíkových transportérů během buněčné smrti indukované glukosou.

K této práci mám následující otázky: Uvádíte, že buňky *S. cerevisiae* postrádající transportér Trk2 mají problém dokončit buněčný cyklus na úrovni separace buněk. Proč k tomu dochází? Pozorovali jste to jen v podmínkách buněčné smrti indukované glukosou, nebo se jedná o obecný důsledek delece genu *TRK2*?

Poslední, čtvrtá studie je také zatím v podobě manuskriptu připraveného k podání a zabývá se transportem draslíku v kvasinkách *Kluyveromyces marxianus*. Vznikla díky spolupráci několika laboratoří. Disertant provedl část experimentů ve spolupracující laboratoři a metody, které se tam naučil (zejména CRISPR), posléze přenesl do své laboratoře domovské.

K této práci bych se chtěla zeptat, jestli *Kluyveromyces marxianus* mohou být patogenní. V literatuře o patogenních kvasinkách jsem na ně nenarazila, ale v úvodu této disertace se uvádí, že *K. marxianus* vydrží vysoké teploty a sekretují hydrolytické enzymy, a tyto vlastnosti jsou považovány za důležité pro patogenitu.

Závěrem: Disertační práci Mgr. Jakuba Masaryka považuji za velmi zdařilou po stránce obsahové i formální a plně ji doporučuji k dalšímu řízení.

V Praze, 22.1. 2023

Doc. RNDr. Olga Heidingsfeld, CSc.