

Posudek na diplomovou práci

Posudek školitele

Jméno školitele: RNDr. Jan Fíla, Ph.D.

Datum: 17.1.2024

Autor: Bc. Petr Šesták

Název práce: Role β -podjednotky komplexu asociovaného s nascentním polypeptidem (NAC) při odpovědi huseníčku rolního na různé abiotické stresy

Zařazení předkládané práce do kontextu dalších prací týmu

Diplomová práce Petra Šestáka logicky zapadá do širšího výzkumného tématu, na něž se zaměřovaly tři proběhlé grantové projekty školitele – GAČR (19-01723S) a COST (LTC18043, LTC20050). Tyto projekty si souhrnně kladly za cíl odhalit roli komplexu asociovaného s nascentním polypeptidem (NAC) u huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana*), v jehož genomu jsou kódovány dva homology β -podjednotky a 5 homologů α -podjednotky tohoto komplexu. Dříve, než byly zahájeny experimenty prováděné v rámci řešení této diplomové práce, byl fenotyp dvojitého homozygotního mutantu *nac β 1nac β 2* detailněji charakterizován, byla ověřena buněčná lokalizace studovaných bílkovin a byla provedena promotorová analýza za normálních podmínek. Dále byly v rámci diplomové práce Boženy Klodové zkoumány vzájemné interakce obou NAC β podjednotek s pěti podjednotkami NAC α huseníčku rolního. V neposlední řadě byl identifikován transkriptom a proteom květních pupat dvojitého homozygotního mutantu *nac β 1nac β 2*, který byl následně porovnán s divokými rostlinami huseníčku rolního, ekotypu Columbia-0. Diplomová práce Petra Šestáka tak logicky navazuje na provedené experimenty a posouvá studium komplexu NAC dále, konkrétně je jejím cílem odhalit jeho roli za stresových podmínek. Z pohledu molekulární funkce bylo cílem práce otestovat chaperonovou aktivitu jednotlivých NAC podjednotek.

Přístup studenta k zadanému tématu

Petr Šesták obhájil v Laboratoři biologie pylu pod mým vedením již svoji bakalářskou práci, jejíž téma si samostatně vybral a při jejímž řešení byl velmi aktivní. Už tou dobou začínal pracovat na prvních experimentech pro svoji diplomovou práci. Pokusy dokázal provádět samostatně a pečlivě, během studia si dokázal osvojit celou řadu technik specifikovaných níže. Za zvlášť obtížnou část práce lze považovat zavedení nového protokolu testujícího chaperonovou aktivitu proteinů, což si vyžádalo studium značného množství literatury a provedení několika pilotních experimentů. Plánované pokusy se nakonec bohužel nepodařilo dokončit, což nebylo chybou studenta, ale vlivem několika nečekaných komplikací, které se objevily v průběhu řešení práce. Diplomant zvládl spolupracovat i s dalšími členy laboratoře, včetně doktorandky Boženy Klodové, s níž dokázal vzájemně diskutovat zjištěné výsledky. Také stojí za zmínku Petrovy prezentační dovednosti, kdy dokázal svá data prezentovat na mezinárodní vědecké konferenci formou posteru, i jeho účast na popularizačních aktivitách Ústavu experimentální botaniky AVČR. Nicméně mojí výtkaou zůstává, že Petr mohl být v celkovém přístupu k práci i v naší vzájemné komunikaci mnohem aktivnější. Nejvíce se tyto rezervy projevíly při sepisování práce, kdy nedodržel domluvené termíny, do kdy měl napsat příslušné pasáže. Pozdní sepsání práce nakonec bohužel vyústilo ve velmi omezené možnosti revize finálního textu, na kterou zbylo pouhých několik dní před odevzdáním.

Postup práce

Student se práci věnoval soustavně od asi třetího ročníku svého bakalářského studia. Samostatně fungoval v laboratoři, kde si dokázal osvojit celou řadu technik, mezi které patří například extrakce nukleových kyselin a proteinů, PCR, agarózová gelová elektroforéza nukleových kyselin, RT-qPCR, proteinová SDS-PAGE elektroforéza, Western bloty, klonování metodami Gateway a Golden-Braid, transformace bakterií a rostlin, kultivace rostlin i bakterií *in vitro* nebo konfokální mikroskopie. Chaperonové testy se bohužel nepodařilo dokončit, což bylo dáno hlavně nedostatečnou výtěžností získaných expresních linií huseníčku rolního, a tím vyvolaný nedostatek vnášeného testovaného proteinu. Přes zmíněné komplikace a pozdní sepsání práce byla získána kvalitní data, která plánujeme v budoucnu publikovat jako součást impaktovaného článku.

Celkové hodnocení (1 - výborně; 2 - velmi dobře; 3 - dobře; 4 - nevyhověl/a)

Práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji stupněm výborně.

Podpis školitele