

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci Kateřiny Schwarzerové

„Signaling to the microtubular cytoskeleton during abiotic stress in plants“

Předložená disertační práce Kateřiny Schwarzerové se zabývá velmi aktuálním tématem, jímž je úloha mikrotubulů v přenosu signálu, konkrétně v odpovědi rostlinných buněk na abiotický stres. Tématicky práce navazuje na výsledky pracovníků Katedry fyziologie rostlin PřF UK Praha, kde vznikala, a podstatným způsobem je rozšiřuje. Disertace má formu souhrnu čtyř původních prací, z nichž tři práce již byly vydány a jedna je v tisku. Kromě těchto čtyř prací se Kateřina Schwarzerová též podílela na dalších dvou kvalitních publikacích, které však nejsou přímou součástí disertace. Vzhledem k této formě prezentace, jsou články uvedeny literárním přehledem, který je napsán ve velmi dobré angličtině a disertantka v něm sumarizuje současné poznatky o úloze mikrotubulů v přenosu signálu z vnějšího prostředí do buňky a diskutuje hypotézy, že mikrotubuly jsou integrální součástí signálních drah u rostlin. Přehled je zpracován velmi koncisně a týká se zejména případů, které jsou řešeny v zahrnutých článcích a to buněčné toxicity iontů hliníku a úlohy mikrotubulů ve vnímání chladu.

Kateřina Schwarzerová je prvním a korespondujícím autorem práce o vlivu iontů hliníku na organizaci mikrotubulů buněk tabáku uveřejněném ve kvalitním zahraničním časopise *Plant Cell Physiology* s impaktním faktorem 3,258 (2004). Autoři článku zjistili, že tyto ionty indukují tvorbu dalších mikrotubulárních svazků v kortexu což vede ke ztrátě orientace mikrotubulů. Tyto změny předchází snížení životaschopnosti buněk a jsou doprovázeny zvýšením obsahu α -tubulinu. Mikrotubuly jsou tedy považovány za časný cíl působení iontů hliníku na rostlinnou buňku. Druhá práce, kde je disertantka také prvním i korespondujícím autorem se věnuje analýze změn v kortikální cytoplazmě buněk tabáku po působení chladu. Získané výsledky naznačují, že cytoskeletální proteiny, které se uvolňují ze struktury při teplotě 0°C, mohou následně opět polymerizovat. V práci bylo dále ukázáno, že membránový systém buněk se významně účastní obnovy prostorové organizace buňky po působení chladu. Kateřina Schwarzerová je korespondujícím autorem také třetí práce, zveřejněné v *Plant Cell Environment*, která se týká determinace míst iniciace tvorby aktinových vláken tabákových buněk a analýzy jejich reorganizace v důsledku chladu. V práci byl navržen model mechanismu reorganizace mikrotubulů i mikrofilament v důsledku chladu. Zveřejněné výsledky jsou plně konsistentní s fakty získanými v jiných laboratořích. Na přiloženém rukopisu práce, která je v tisku v časopise *Protoplasma*, se disertantka opět podílela jako první a korespondující autor. Jedná se o analýzu změn v akumulaci tubulinu v důsledku nízké teploty. V této práci bylo využito intragenově značených proteinů pomocí GFP k přesné specifikaci proteinů jaderné frakce. Autoři zjistili, že buněčná jádra interfázních buněk ovlivněných chladem obsahují tubulin. Byla rovněž identifikována sekvence zodpovědná za export tubulinu z jádra.

Vzhledem k tomu, že většina prezentovaných výsledků ve formě rukopisů již úspěšně prošla recenzním řízením před zveřejněním, lze konstatovat, že podobně jako použitý experimentální přístup jsou dosažené výsledky na velmi dobré úrovni. Podíl Kateřiny Schwarzerové na prezentovaných výsledcích je zřejmý již z prvních stran publikovaných prací. Disertace je ukončena krátkým souhrnem, ve kterém je přínos prací výstižně zhodnocen. Spíše k oborové radě mám pouze jednu obecnou připomínku, která se týká formy disertace. Tato „krátká“ forma nepochybně umožňuje v případě dostatečného množství a

kvality publikací, např. jako je tento, poměrně jednoznačné ukončení postgraduálního studia. Při prezentaci výsledků se však ale často zůstává (avšak ne v tomto případě), vzhledem k týmovému charakteru práce až do obhajoby, skryta metodická specializace autora. Doporučoval bych proto předepsat podrobnější a jasnější popis experimentálního podílu disertanta na zahrnutých publikacích. Nicméně touto připomínkou nechci snižovat vysokou úroveň předložené disertace, která svou kvalitou nepochybně přesahuje běžný standard.

K disertační práci mám následující dotazy:

- 1) Efekt hlinitých iontů na rostlinnou buňku a cytoskelet je z prezentovaných prací zřejmý. K bobtnání láčky a zastavení růstu však také dochází v důsledku inhibice vápenných kanálů specifickými inhibitory, jako je např. verapamil. Očekával bych proto, že důsledkem působení iontů hliníku je spíše blokování vápenných kanálů než jejich otevření. Jedná se o stejné vápenné kanály? Mohla byste uvést jakým způsobem bylo prokázáno, že působení iontů hliníku je spojeno s influxem kalcia spíše než s uvolněním kalcia z vnitrobuněčných zásob?
- 2) Dochází v rostlinných buňkách k rozpadu mikrotubulů i po osmostresu? Pokud ano, bylo to ukázáno na živých buňkách?
- 3) Uvádíte, že mikrotubuly mohou být uvažovány jako senzory chladu. Mohly by mikrotubuly být též zapojeny do vnímání teplotního šoku či osmostresu?

Závěr: Disertační práce Kateřiny Schwarzerové je velmi kvalitní. Autorka prokázala dobrý přehled o odborné literatuře. V prezentovaných publikacích je aplikováno široké spektrum cytologických a biochemických technik. Výsledky obsažené v disertační práci lze přiřadit ke špičkovým poznatkům buněčné biologie rostlin. Práce má potřebné formální náležitosti a vyhovuje všem kritériím, která jsou kladena na doktorskou disertační práci. Práci doporučuji k obhajobě.

V Praze dne 6.2. 2006

Ing.Jiří Hašek, CSc.