

Oponentský posudek

na disertační práci Kataríny Vaškovičové “Changes in domain organization of the plasma membrane in the stress response”

Katarína Vaškovičová se ve své práci zabývala zajímavým tématem – úlohou MCC/eisosomů při chronickém nedostatku glukosy. Konkrétně studovala mechanismus regulace exoribonukleasy Xrn1, která je při depleci glukosy relokalizovaná z cytoplasmy a P-bodies do MCC/eisosomů a tím je inhibovaná její aktivita. Jde o zcela nový způsob regulace enzymové aktivity. Zaměřila se také na funkční signifikanci relokalizace dalšího proteinu Nce102, který se při nedostatku glukosy částečně přesouvá z MCC/eisosomů do vakuolární membrány. A v neposlední řadě se věnovala studiu kompatibility MCC/eisosomálních proteinů kvasinek *S. cerevisiae* a *S. pombe*.

Literární úvod je velmi obsáhlý s množstvím citací. Autorka v něm podrobně popisuje strukturu MCC/eisosomu, jeho skládání a dynamiku a funkci při stresové odpovědi. Úvod je doplněn řadou vhodně vybraných obrázků. Rozhodně by mu ale prospělo zestručnění, rešerše je velice podrobná a nad rámec tématu práce.

Cíle práce jsou jasně definovány a zcela splněny.

Metodicky je práce poměrně bohatá. Metody jsou popsány podrobně, ale věcně, experimenty by podle nich bylo možné jednoznačně zopakovat.

Výsledky jsou formulovány jasně a poměrně čtivě. Zejména se mi líbí dobře zpracované mikroskopické obrázky včetně jejich jasných popisů (na obrázku i v legendě). Také velmi oceňuji bodové shrnutí toho, co bylo ukázáno na konci každé ze tří kapitol výsledků.

Diskutovány jsou výsledky poměrně obsáhle a nechybí nastínění dalšího možného výzkumu.

Výsledky práce byly publikovány ve dvou článcích v *European Journal of Cell Biology*, tedy v časopise se solidním impakt faktorem, gratuluji k nim!

Celkově hodnotím disertační práci jako velmi zdařilou a doporučuji ji k obhajobě.

Připomínky k práci mám opravdu jen drobné:

U obr. 4 chybí v legendě označení (E)

Obr. 5(C) - není vysvětleno, co označuje hvězdička (asterisk).

Obr. 10, obr. 11 - není uvedeno o jakou odchylku se jedná.

Některé obrázky jsou zcela převzaty z publikace a pak je na část obrázku odkázáno až o pár stránek později (např. obr. 8 a obr. 9). Pro účely disertační práce by bylo lepší je rozdělit.

K práci mám následující otázky:

Součástí disertace je studium nového mechanismu regulace degradace mRNA. Jak jste tento způsob regulace enzymatické aktivity v laboratoři odhalili?

Je nějaký další enzym regulován obdobným způsobem (relokací do jiného buněčného kompartmentu)?

Vede i jiný typ stresu k relokaci Xrn1 do MCC/eisosomů?

Na obr. 12 (str.69) ukazujete relokaci Xrn1-GFP po přidání glukosy zpět do cytoplasmy. Proč se po přidání glukosy samotné objevuje Xrn1-GFP více v P-bodies než v případě současného přidání glukosy a cykloheximidu?

U některých mikroskopických obrázků (převážně v kapitole 5.2, např. obr.13, 14, 18, 20) jsou některé buňky s neočekávanou lokalizací fluorescenčního signálu – např. Sur7-GFP v cytoplasmě již v čase 48h (obr.13) nebo Vph1-mCherry v cytoplasmě (obr. 18). Je to efekt overexprese daných proteinů nebo autofluorescence mrtvých kvasinek?

Pomocí heterologní exprese vybraných proteinů jste studovala kompatibilitu proteinů MCC/eisosomů kvasinek *S. cerevisiae* a *S. pombe*. Jakou mají tyto proteiny sekvenční a strukturní homologii?

Navrhujete využít MCC/eisosomy jako možný cíl antimykotické terapie. Jak byste to provedla?

V Praze, 29.11.2019

Zuzana Cvačková

Laboratoř Biologie RNA

Ústav molekulární genetiky AV ČR, v.v.i.