

Posudek oponenta na magisterskou práci

Autor: Bc. Zuzana Hájková

Název práce: Vliv aktivace žírných buněk na organizaci mikrotubulů

Cíle práce: Cílem práce bylo zavést metodu pro studium aktivačních dějů na adherovaných myších žírných buňkách kostní dřene (BMMC) a s její pomocí určit vliv specifické i nespecifické aktivace BMMC na organizaci mikrotubulů. Dalším cílem bylo pokusit se charakterizovat molekulární mechanismy zodpovědné za reorganizaci mikrotubulů v průběhu aktivace.

Struktura a formální úroveň práce: Diplomová práce, v rozsahu 85 stran, má standardní strukturu. Ve srozumitelně napsaném literárním přehledu jsou uvedeny základní poznatky o dynamice mikrotubulů a podrobněji jsou popsány regulační mechanismy na plus a minus koncích mikrotubulů. Dále jsou rozvedeny signální dráhy, které vedou k aktivaci žírných buněk. Jsou použity relevantní literární odkazy, které jsou v práci správně citovány. Celkový počet literárních odkazů v diplomové práci je 119. V podrobně popsané části „Materiál a metody“ jsou uvedeny všechny použité materiály a postupy, které byly aplikovány v experimentální části. Ve výsledkové části jsou vždy vysvětleny cíle jednotlivých pokusů, dosažené výsledky a jejich shrnutí. K dokumentaci výsledků je uvedeno 18 obrázků. V diskusi jsou dosažené výsledky porovnány s dostupnou literaturou a jsou uvedeny i návrhy na další řešení problematiky. Závěry diplomové práce jsou výstižné. Protože některé výsledky diplomové práce byly publikovány, je přiložena i kopie článku (J. Immunol., 2011, 186: 913-923). Studentka dodala za účelem oponentury k diplomové práci i tištěnou verzi doplňujícího materiálu k tomuto článku obsahující její výsledky. Celkově je možno říci že diplomová Zuzany Hájkové má dobrou grafickou a jazykovou úroveň a je sepsána pečlivě s minimem překlepů.

Výsledky práce: Hlavním metodickým přínosem této práce je zavedení metody pro sledování rychlých morfologických změn při aktivaci BMMC. Aplikací této metody bylo prokázáno, že specifická i nespecifická aktivace BMMC vede k reorganizaci mikrotubulů a k tvorbě „mikrotubulárních výběžků“. Za fyziologických podmínek aktivace (agregace receptorů pro IgE na povrchu buňky) závisí reorganizace mikrotubulů na aktivitě protein tyrosinových kináz Src rodiny a na vnitrobuněčné koncentraci Ca^{2+} , regulované STIM1 proteinem. Výsledky také naznačují, že by koncentrace Ca^{2+} mohla modulovat jak nukleaci mikrotubulů z MTOC, tak i jejich polymeraci. Práce přináší původní vědecké výsledky na jejichž základě vznikla

publikace otištěná v prestižním mezinárodním časopise, kde je Bc. Zuzana Hájková prvním spoluautorem. Cíle diplomové práce byly splněny a navíc se otevírá nová cesta regulace organizace mikrotubulů pomocí změn v koncentraci Ca^{2+} .

Dle názoru oponenta Zuzana Hájková prokázala, že je schopna samostatně experimentovat, získat data vynikající úrovně a tato kriticky hodnotit.

Otázky a připomínky:

1) Jsou změny v distribuci histaminových granul i při aktivaci BMBC za fyziologických podmínek (v Obr. 9 je ukázána jen nespecifická aktivace thapsigarginem). Mění se rozložení granul po působení nokodazolu? Jaká je, podle Vašeho názoru, role mikrotubulů při degranulaci?

2) Fyziologická aktivace vede k přechodné tvorbě „mikrotubulárních výběžků“, podmíněné zvýšenou intracelulární koncentrací Ca^{2+} . Jakým mechanismem je pak tvorba výběžků inhibována po snížení koncentrace Ca^{2+} ?

3) Jestliže Ca^{2+} ovlivňuje nukleaci mikrotubulů z MTOC, je něco známo o působení Ca^{2+} na stabilitu gama-tubulinových komplexů, které jsou v buňkách klíčové pro nukleaci mikrotubulů?

Návrh hodnocení oponenta: výborně

V Praze 22. května 2011

Doc. RNDr. Pavla Binarová, CSc