

Posudek školitele na diplomovou práci Pavla Bokvaje
Role transportu tubulinu mezi jádrem a cytoplazmou

Dovolte mi začít tento posudek obecnou úvahou. Věda je těžká práce. Je těžká fyzicky – kolikrát je třeba obětovat své síly i svůj volný čas a kvůli zdaru experimentu třeba přespát v laboratoři. Je těžká i psychicky – vždyť mnohdy je přetěžké udržet na zřeteli svůj cíl a nepodlehnout deziluzi pod tíhou hory negativních výsledků. Jen ten, kdo je ochoten obětovat kus sebe sama a vydržet, i když experimenty ne vždy poskytují unikátní a vzrušující výsledky, může ve vědě uspět.

Projekt, který v rámci své diplomové práce řešil Pavel Bokvaj, je unikátní v tom smyslu, že jde o nový směr výzkumu. Existence jaderných exportních signálních sekvencí (NES) byla publikována naší skupinou v roce 2006 a od té doby na této problematice dále pracujeme. Pavel Bokvaj tak vstoupil do již běžícího projektu, měl k dispozici většinu vektorů a zaběhaných metod. Proto na začátku jeho diplomové práce bylo téma poměrně široké. Zahrnovalo práci s živočišnými kultivovanými buňkami, kde měl Pavel testovat aktivitu jednotlivých signálních sekvencí ve fúzi s NES stejným způsobem, jako v té době již byly sekvence otestovány naší skupinou na rostlinných buňkách. Dále měl za úkol testovat vliv exprese tubulinů nesoucích mutaci v jednotlivých NES v rostlinných buňkách a celistvých rostlinách pomocí již připravených vektorů. Bohužel během řešení práce narazil Pavel na několik objektivních překážek. Především, expresní vektory pro živočišné buňky připravené v naší laboratoři byly nevhodné, pravděpodobně vlivem nevhodné formy GFP. Po sérii transfekcí provedených Pavlem bylo tedy rozhodnuto, že experimenty převezmou odborníci z jiné laboratoře, kteří posléze změnou expresního vektoru i formy GFP dosáhli kýženého výsledku. Pavel dále pokračoval na poněkud zúženém, stále však dost širokém tématu, kdy transformoval rostliny *Arabidopsis thaliana* a prováděl testy na kultivovaných buňkách tabáku. Zde se objevil další fakt, a to že exprese mutovaných tubulinů nemá oproti našemu očekávání v buňkách žádné dramatické efekty a že je velmi dobře snášena bez zjevných problémů. Totéž platilo o rostlinách *Arabidopsis thaliana*, které po indukci navíc exprimovaly transgen pouze mozaikovitě a jen v některých orgánech. Zde měla začít mravenčí práce v selekci rostlin a buněčných linií, kde je exprese uspokojivá, a v hledání jakýchkoliv efektů, které exprese mutantních tubulinů může mít. Pavel však jakoby náhle vyčerpal svůj zájem a v okamžiku, kdy bylo třeba nejvíce jeho invence a vytrvalosti, experimentoval málo, spíše chaoticky a bez systému. Aby získal více času na dokončení alespoň jedné experimentální linie, rozhodl se dále věnovat již jen celistvým rostlinám, přičemž testování buněk převzali jiní členové týmu. Ani toto další zúžení tématu však nepomohlo. Způsob experimentování a ochota investovat více času do této práce se bohužel nezměnily. Faktor nedostatku času zde spíše nehrál roli, neboť nutnost vykonat či opakovat některé experimenty byla Pavlovi známa i několik měsíců před dokončením diplomové práce. Výsledkem je práce, kde mnoho experimentů úplně zbytečně končí konstatováním, že je třeba pokus zopakovat, neboť buněk/rostlin/údajů nebylo v pokusu dost na dobré statistické hodnocení výsledků. Tímto se ovšem výsledky stávají víceméně bezcennými, jako by tomu bylo u jakéhokoliv jiného vědeckého projektu.

Přesto však Pavel během řešení narazil na hned několik velmi zajímavých problémů, které jsou nečekané a rozhodně stojí za to dále rozvíjet. Příkladem je zjištění, že leptomycin B nemá na rostliny *Arabidopsis* žádný makroskopický vliv, pokud je aplikován po dobu dokonce několika dní. Zajímavé je také zjištění, že tubulin se nehromadí v jádrech vlivem chladu u buněk *Arabidopsis thaliana*. Proto je tím větší škoda, že projekt skončil jakoby napůl cesty.

Při psaní textu diplomové práce Pavel vytvořil text o standardním členění, s minimem překlepů, nepřesností či neobratných vyjádření, které se vyskytnou snad ve většině vědeckých prvotin, jakými jsou diplomové práce. Při vypracovávání textu Pavel naopak prokázal, že o problému dokáže přemýšlet. Velmi dobře pracoval s literaturou a v diskusi neopomněl vhodně diskutovat všechny aspekty svých výsledků. Tím více je škoda, že v experimentální části nemohl uvést více dat.

Přes výše uvedené výhrady Pavel Bokvaj zcela nepochybně prokázal, že je schopen samostatné experimentální práce a jejího zpracování do vědeckého textu standardního typu. Práci proto doporučuji k obhajobě a hodnotím jako velmi dobrou.

Nakonec si dovoluji popřát Pavlovi Bokvajovi mnoho úspěchů a vytrvalosti v případné další vědecké kariéře. A ještě přidám svůj názor, že významné vědecké úspěchy se většinou nezískávají díky jedinému geniálnímu experimentu, ale pomocí dlouhodobé soustředěné, trpělivé, mravenčí a pokorné práci, která jediná může vést ke kýženému výsledku.

V Praze dne 12.9.2012

Kateřina Schwarzerová