

Oponentský posudek doktorské disertační práce Mgr. Vratislava Šťovíčka  
**„Molekulární mechanismy tvorby a vývoje kolonií přírodních kmenů *Saccharomyces cerevisiae*“**

V předložené disertační práci se Mgr. Vratislav Šťovíček zabývá zajímavým a aktuálním tématem, jímž je objasnění principů vzniku a vývoje komplexních strukturovaných kolonií kvasinky *S.cerevisiae*. Disertace vznikala pod vedením Prof. Zdeny Palkové na Katedře genetiky a mikrobiologie PřF UK v Praze. Disertace má formu souboru pěti prací, který zahrnuje tři již zveřejněné publikace v impaktovaných časopisech, dále jednu publikaci v časopise bez impaktu a jednoho rukopisu práce odeslaného k recenzi do zahraničního časopisu. Podíl disertanta na výsledcích i zahrnutých publikacích dokládá skutečnost, Mgr. Vratislav Šťovíček je uveden čtyřikrát jako první autor a jednou na druhém místě jako důležitý spoluautor.

Disertace je sepsána v češtině s krátkými souhrny v angličtině. Autoreferáty jsou psány v obou jazycích. Po krátkém úvodu následuje přehled čtyř hlavních cílů práce, ke kterým se vztahuje i velmi podrobný 38 stránkový literární přehled. Další kapitola je věnovaná krátkému popisu použitého biologického materiálu a výčtu použitých metod. Samostatnou kapitolu tvoří kopie zahrnutých publikací, které jsou vždy uvedeny jednostránkovým přehledem hlavních výsledků. Práci uzavírá koncisně zpracovaná diskuse výsledků (13 stran) a závěr (2 strany).

První práce v *Environmental Microbiology* se týká objasnění úlohy dimorfismu kvasinek ve vytváření kvasinkových kolonií. Autoři zjistili, že k vytvoření strukturovaných kolonií kvasinky využívají mechanismu přepínání typu růstu, který je aktivován amoniakem a dalšími těkavými aminy. Autoři prokázali, že další vývoj kolonie závisí na adhesinu Flo11, který se stěhuje do vrcholu prodlužujících se buněk. Podíl Vratislava Šťovíčka byl zřejmě významný, neboť je na této práci uveden jako rovnocenný první autor.

Druhá práce v časopise *Fungal Genetics and Biology* je zaměřena na charakteristiku obecných faktorů ovlivňujících tvorbu strukturovaných kolonií. Je zejména analyzován vliv proteinů kvasinkové "extracelulární matrix" u různých kvasinkových kmenů. Autoři ukázali, že schopnost tvořit kolonie a jejich struktura přímo závisí na proteinovém složení této matrix, zejména na proteinu Flo11. Dále bylo zjištěno, že ani tvar buněk či schopnost pseudohyfálního růstu architekturu kolonie přímo neovlivňuje. Mgr. Šťovíček je prvním autorem této práce.

Třetí dílčí cíl, který se týká vnitřní struktury kolonií a mechanismů podílejících se na jejich ochraně je řešen v dalších dvou publikacích. V prestižním časopise *J. Cell Biology* autoři zveřejnili studii o tom, že biofilmová kvasinková kolonie je jemně nastaveným mnohobuněčným organismem, který realizuje různé obranné mechanismy. V rámci vývoje kolonií byly navrženy modely působení membránových transporterů Pdr5 a Snq2 a tvorby extracelulární matrix. Mgr. Šťovíček je na této práci uveden jako druhý autor. Řešení otázek třetího dílčího cíle je rovněž součástí přehledné práce v *Comp. and Integrative Biology*, které je Mgr. Šťovíček prvním autorem. V práci je diskutován význam vnitřní organizace kolonií pro jejich vlastní ochranu.

Čtvrtý dílčím cílem, který zcela přirozeně vyplývá z výsledků předchozích studií, je stanovení genetických parametrů heterogenity přírodních kmenů kvasinek. Prezentované výsledky jsou součástí přiloženého rukopisu, kterého je Mgr. Šťovíček prvním autorem. Autoři srovnávali transkriptomy tří rozlišitelných fenotypických variant kvasinkových přírodních kmenů tvořících biofilmové kolonie. Byly specifikovány genetické determinanty tvorby biofilmů a popsány změny, ke kterým dochází během přechodů fenotypů. Byla také dokumentována úloha histon deacetylázy Hda1 v resistenci kvasinek divokého typu ke stresu. Výsledky práce naznačují specifickou úlohu tohoto enzymu v epigenetickém mechanismu kontroly adaptace kvasinek na změny vnějšího prostředí.

Vzhledem k tomu, že většina výsledků uvedených v disertační práci Mgr. Vratislava Šťovíčka již úspěšně prošla recenzním řízením před zveřejněním ve velmi kvalitních časopisech, lze konstatovat, že experimentální přístup i uvedené výsledky jsou na vynikající úrovni. Cíle uvedené v disertaci byly nepochybně splněny.

Připomínky:

Při obhajobě specifikujte váš konkrétní podíl na zahrnutých publikacích (metodiky, experimenty, literatura, psaní rukopisu atd.).

Otázky:

- 1) Zjistili jste, že Flo11 je nezbytný pro tvorbu mikrokolonii a zarůstání buněk do agaru. Dále uvádíte, že buňky mikrokolonie *flo11* delečního mutantu ztrácí typický vláknitý tvar. Vysvětlíte souvislosti funkce proteinu Flo11 s těmito změnami, např. zda-li existuje přímá souvislost mezi funkcí Flo11 a nukleací aktinových svazků?
- 2) Lze některé fenotypické projevy přepínání morfologii v důsledku nutričního stresu pozorovat též i u třepaných kultur laboratorních kmenů?
- 3) Co je známo o úloze vápenatých kanálů v morfogenezi kvasinek?

Závěr: Mgr. Vratislav Šťovíček nepochybně prokázal schopnost práce s odbornou literaturou, spolupráce ve vědeckém týmu i schopnost sepsat vědeckou publikaci. Výsledky obsažené v publikacích začleněných do disertační práce lze přiřadit ke špičkovým poznatkům v oblasti buněčné biologie. Práci doporučuji k obhajobě a po jejím úspěšném průběhu doporučuji udělit autorovi titul PhD.

V Praze dne 6.6. 2012

Ing. Jiří Hašek, CSc.