

Posudek disertační práce Mgr. Lenky Horníkové,, Hlavní strukturní protein myšího polyomaviru: Interakce s buněčnými strukturami“.

Disertační práce Lenky Horníkové má dva experimentální cíle. Na obou tématech L. Horníková pracovala již během své diplomové práce a v průběhu disertace byly výsledky obou částí publikovány. První téma disertace: studium vstupu viru do buňky bylo řešeno větší skupinou spolupracovníků pomocí většího počtu metod zahrnujících imunofluorescenci, konfokální a elektronovou mikroskopii, proteinovou analýzu i virologické metody. Doktorandka se přitom zabývala určením úlohy klatrinen zprostředkované endocytózy, role kaveolinem zprostředkované endocytózy a analýzou mechanismu funkce časných endosomů při infekci, což odpovídá popisu v kapitole výsledky. U druhého tématu, které se týkalo vypracování metodiky pro studium interakcí virového proteinu VP1 s buněčnými makromolekulami při morfogenezi virionu byla doktorandka hlavním řešitelem a měla hlavní podíl na získání výsledků. Podařilo se jí zavést metodu modré nativní elektroforézy pro detekci VP1 komplexů v lyzátech virem infikovaných buněk a detekovat interakci s Hsp70. Tyto výsledky jsou obsaženy v druhé z publikací, které jsou podkladem disertační práce. Předložená práce dále obsahuje množství originálních dosud nepublikovaných výsledků, které L. Horníková získala pomocí fúzních proteinů VP1, které sama zkonstruovala, optimalizovala jejich expresi, izolaci a detekci produktů. Pomocí nich se podařilo nalézt interakce s dalšími buněčnými proteiny. Určení proteinů pomocí hmotnostní spektrometrie bylo sice prováděno ve spolupráci se specializovanou laboratoří, ale přesto je škoda, že disertační práce neobsahuje více informací o analýze výsledků.

Disertační práce o rozsahu 102 stran je klasicky členěna. Hlavním námětem **Literárního přehledu** (20 str.) je biologie myšího polyomaviru a interakce s buněčnými proteiny. Literární úvod je účelně zacílen na témata týkající se práce, obsahuje aktuální informace a je napsán přehledně. Kapitola **Materiál a metody** (14 str.) obsahuje popis všech použitých metod a substancí. Kapitola **Výsledky** (29 stran) obsahuje popis a výsledky pokusů, které autorka sama prováděla. Práci uzavírají **Diskuze** (12 stran) a **Souhrn** (1 strana). Diskuze obsahuje srovnání s daty získanými pro jiné polyomaviry a čtenář tu získá představu jak se vyvíjejí názory na vstup těchto virů do buňky. Je zde i zmínka o dalších pokusech detekovat buněčné proteiny, které měly negativní výsledek. Je škoda, že tato část nebyla do disertační práce zařazena.

ZÁVĚR

Předložená disertační práce je kvalitní a zdařilá a svědčí o tom, že Lenka Horníková je schopný experimentátor a že má vynikající předpoklady pro vědeckou práci. Práce splňuje požadavky kladené na doktorskou disertační práci a doporučuji ji jako podklad k obhajobě.

DOTAZY A PŘIPOMÍNKY:

Bylo by možné pro izolaci proteinových komplexů použít imunoprecipitaci pomocí anti-VP1 protilátky?

Obr. 23 by měl být doplněn o kontrolní vzorek proteinů z neinfikovaných buněk, pokud je k dispozici.

Kapitola „Seznam zkratk“ měla být uvedena v obsahu.

Str. 81 jazykové neobratnosti – myší fibroblasty odvozené od myši, kaveolin 1 knockout

V Praze 21. června 2012

RNDr. Š. Němečková DrSc.