

## Posudek na disertační práci Ing. Petra Skúpy "PIN Family of Auxin Transporters: Functional and Evolutionary Aspects"

Disertační práce předkládaná formou komentovaného souboru publikací představuje průřez prací, na kterých se autor spolupodílel v oblasti studia molekulárních mechanismů transportu auxinu a jeho evolučních aspektů.

Autor bezesporu prokázal, že je schopen samostatné experimentální práce i spolupráce v autorském kolektivu. Předložená práce zahrnuje data opublikovaná ve třech původních článcích a dvou souborných článcích, kde je uchazeč spoluautorem (Petrasek *et al.*, 2006; Zazimalova *et al.*, 2007; Mravec *et al.*, 2008; Mravec *et al.*, 2009), resp. sdíleným prvním autorem (Krecek *et al.*, 2009).

Předložené publikace přinášejí zásadní zjištění z oblasti analýzy role auxinových přenašečů z rodiny PIN v regulaci mezibuněčné distribuce auxinu a některých vývojových konsekvencí. Tomu odpovídá i prestiž mezinárodních časopisů, ve kterých byla tato sdělení publikována. Autorova spoluúčast nebyla, alespoň podle jeho vlastního hodnocení, formální a zejména oceňují jeho intelektuální vklad k důležité publikaci, ukazující na zcela nový fenomén role PIN5 v homeostaze auxinu prostřednictvím regulace jeho intracelulární distribuce (Mravec *et al.*, 2009). Počet uvedených publikací i jejich kvalita bezesporu snesou na této úrovni vědecké dráhy nejpřísnější mezinárodní měřítka a tak toto, podle mne nejdůležitější kritérium kvality uchazeče, hodnotím velmi pozitivně.

Velmi pozitivně také hodnotím způsob zpracování vlastní disertační práce. V úvodu uchazeč podává velmi přehledným, čtivým a obsažným způsobem přehled současného poznání, což ukazuje na značnou míru orientace autora v dané problematice. Také diskuse není pouhým výčtem diskusních závěrů předložených publikací, ale autor se je zde snaží prezentovat jako celistvou a na sebe navazující práci.

V souvislosti s obhajobou této disertační práce bych se rád zeptal na některé otázky:

1. Po indukci PIN5 v BY-2 suspenzní kultuře tabákových buněk došlo k téměř úplnému vymizení volné IAA [Obr. 3d, (Mravec *et al.*, 2009)]. V případě příslušné transgenní linie *Arabidopsis* (PIN5 OX) je ovšem pokles volné IAA statisticky nevýznamný [obr. 3A, tamtéž]. Jak si autor tuto diskrepanci vysvětluje? Byl analyzován obsah volné IAA u PIN1 mutanta směřovaného do ER [PIN1-GFP-tyr (NSLSL)], resp. byl analyzován jeho fenotyp?





2. Kromě poklesu volné IAA a IAA-Glc po indukci exprese PIN5 v BY-2 je na obrázku 3d a S7f (Mravec *et al.*, 2009) patrný naopak nárůst jednoho z dalších metabolitů, který není jednoznačně identifikován. Mohlo by se v tomto případě jednat o konjugáty IAA s aminokyselinami (IAA-Asp a IAA-Glu) nebo se jedná o jiný, dosud neznámý metabolit? Jak autor uvádí, konjugáty IAA s glukózou jsou považovány za zásobní formy IAA. Je autorovi známo něco o lokalizaci těchto zásobních forem, resp. modifikujících enzymů v buňce?
3. Uchazeč ve své prvoautorské práci uvádí „...With the possible exception of the PIN6-related proteins, the general function of all long PINs from seed plants is to transport auxin out of the cell.“ Oproti tomu sám uchazeč publikoval zjištění, že zvýšená exprese vede k redukci retence a tedy zvýšení transportu NAA z buňky a to na kvantitativně srovnatelné úrovni s PIN4 a PIN7 (Petrasek *et al.*, 2006). Možné vysvětlení na základě absence prodlužování buněk jako fenotypu závislého na „vyhladovění“ auxinem (str. 125 předložené práce) zřejmě neobstojí, zejména v konfrontaci se zjištěním publikovaným laboratoří uchazeče, totiž že zvýšená exprese *ABCB4* rovněž není tímto typem fenotypu charakterizována, přesto však role *ABCB4* v transportu auxinu z buňky zpochybňována není (Kubes *et al.*, Plant J., submitted). Mohl by uchazeč tento zdánlivý rozpor komentovat?

Na základě výše uvedeného hodnocení konstatuji, že uchazeč bezpochyby prokázal schopnost kritického myšlení a samostatné vědecké práce. Celkově považuji tuto disertační práci za velmi solidní a zdařilou a doporučuji ji k obhajobě.

V Brně, 13. 8. 2011

Jan Hejátko.

## Literatura

Krecek, P., Skupa, P., Libus, J., Naramoto, S., Tejos, R., Friml, J., and Zazimalova, E. (2009). The PIN-FORMED (PIN) protein family of auxin transporters. *Genome Biol* **10**, 249.

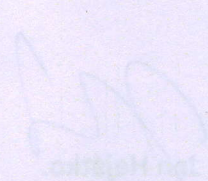
Mravec, J., Kubes, M., Bielach, A., Gaykova, V., Petrasek, J., Skupa, P., Chand, S., Benkova, E., Zazimalova, E., and Friml, J. (2008). Interaction of PIN and PGP transport mechanisms in auxin distribution-dependent development. *Development* **135**, 3345-3354.



**Mravec, J., Skupa, P., Bailly, A., Hoyerova, K., Krecek, P., Bielach, A., Petrasek, J., Zhang, J., Gaykova, V., Stierhof, Y.D., Dobrev, P.I., Schwarzerova, K., Rolcik, J., Seifertova, D., Luschnig, C., Benkova, E., Zazimalova, E., Geisler, M., and Friml, J. (2009).** Subcellular homeostasis of phytohormone auxin is mediated by the ER-localized PIN5 transporter. *Nature* **459**, 1136-1140.

**Petrasek, J., Mravec, J., Bouchard, R., Blakeslee, J.J., Abas, M., Seifertova, D., Wisniewska, J., Tadele, Z., Kubes, M., Covanova, M., Dhonukshe, P., Skupa, P., Benkova, E., Perry, L., Krecek, P., Lee, O.R., Fink, G.R., Geisler, M., Murphy, A.S., Luschnig, C., Zazimalova, E., and Friml, J. (2006).** PIN proteins perform a rate-limiting function in cellular auxin efflux. *Science* **312**, 914-918.

**Zazimalova, E., Krecek, P., Skupa, P., Hoyerova, K., and Petrasek, J. (2007).** Polar transport of the plant hormone auxin - the role of PIN-FORMED (PIN) proteins. *Cell Mol Life Sci* **64**, 1621-1637.



V Brně, 13. 8. 2011

Literatura

Krecek, P., Skupa, P., Libus, J., Wasmann, S., Tejcar, R., Friml, J., and Zazimalova, E. (2009). The PIN-FORMED (PIN) protein family of auxin transporters. *Genome Biol* **10**, 248.

Mravec, J., Kubes, M., Bielach, A., Gaykova, V., Petrasek, J., Skupa, P., Chand, S., Benkova, E., Zazimalova, E., and Friml, J. (2008). Interaction of PIN and GIP transport mechanisms in auxin distribution-dependent development. *Development* **135**, 3343-3354.