

Mgr. Anna Doskočilová

**„Characterization of γ -tubulin protein interactions and their functions
in acentrosomal cells”**

Předložená disertační práce se zabývá aktuálním tématem současné biologie, charakterizací γ -tubulinových interakcí u acentrozomálních rostlinných buněk. γ -Tubulin je klíčový protein pro nukleaci mikrotubulů. Přestože nukleační γ -tubulinové komplexy jsou dobře popsány, regulační mechanismy tvorby těchto komplexů jsou v podstatě neznámé. V posledních letech dochází k rychlému růstu poznatků ukazujících na to, že γ -tubulin je multifunkční protein, který se vedle nukleace mikrotubulů účastní i dalších buněčných funkcí. Proto je velmi důležité identifikovat a charakterizovat nové proteiny, které s γ -tubulinem asociují, a pochopit jejich vliv na funkce γ -tubulinu. Disertační práce byla vypracována v Laboratoři funkční cytologie Mikrobiologického ústavu AVČR. Toto pracoviště dosáhlo řady prioritních výsledků při analýze γ -tubulinu u rostlinných buněk. Studie jsou v disertační práci provedeny na modelovém organismu *Arabidopsis thaliana*. Pozornost je věnována především funkcím γ -tubulinu in vivo a charakterizaci nových interakčních proteinů.

Disertační práce je napsána v anglickém jazyce a skládá se z literárního přehledu, cílů práce, komentářů k publikovaným výsledkům, kde je vždy uveden podíl autorky a celkového závěru. Výsledky disertační práce jsou shrnuty ve třech publikacích, které vyšly v renomovaných impaktovaných časopisech, včetně *Plant Cell* a jednom rukopisu. V tomto souboru prací je Mgr. Doskočilová dvakrát první autorkou. V úvodní části jsou přehledně uvedeny současné poznatky o rostlinných mikrotubulech, γ -tubulinu a mechanismech tvorby mitotického vřeténka rostlinných buněk. Pozornost je také věnována programované buněčné smrti a metabolickým enzymům, které se účastní evoluce cytoskeletu. Cíle práce jsou jasně stanoveny a lze konstatovat, že byly splněny. Diskuze k získaným výsledkům je logicky členěna. V přehledu literatury je uvedeno 201 citací. Podle mého názoru jsou nejdůležitější výsledky předložené práce následující:

1. Průkaz úlohy γ -tubulinu při organizaci kortikálních mikrotubulů a cytokinezi u *Arabidopsis thaliana*. Velmi významný je nález účasti γ -tubulinu v polárním vrcholovém růstu, kde by γ -tubulin mohl mít jiné funkce než je nukleace mikrotubulů.

2. Identifikace NodGS (noduline/glutamine synthetase-like protein) jako nového proteinu, který interaguje s γ -tubulinem a účastní se morfogeneze primárního kořene.
3. Průkaz účasti Aurora1 kinázy v regulaci buněčného cyklu u *Arabidopsis thaliana*. Aurora1 by mohla hrát, spolu s jejím aktivátorem TPX2 a γ -tubulinem, důležitou roli při organizaci mitotických vřetének a fragmoplastu.
4. Podrobný popis vlastností a funkcí nitrilázy 1 (Nit 1), která vedle funkce enzymu má i strukturální roli a je asociována s rostlinnými mikrotubuly. Nit1 protein by se mohl účastnit programované buněčné smrti.

Práce je sepsána pečlivě s minimem překlepů. Po formální stránce mám jen drobné poznámky. Doporučoval bych psát i v anglickém jazyce jména českých autorů s diakritikou, když jsou takto autoři uvedeni v originálních publikacích. Neobvyklé je uvedení použitých metod v části věnované diskuzi k jednotlivým publikacím. Některé formulace nejsou zcela jasné (strana 35, odstavec 3), v českém autoreferátu disertační práce je uveden v abstraktu i anglický text. Protože publikace prošly náročným recenzním řízením před publikováním v renomovaných časopisech, což je zárukou její kvality, nemám konkrétní dotazy k publikovaným výsledkům, ale předkládám několik podnětů k obecné diskusi.

1. Jaká je současná představa o úloze γ -tubulinu při regulaci (+) konce mikrotubulů u rostlin? Byly u acentrosomálních rostlin prokázány kinázy/fosfatázy, které regulují funkce γ -tubulinu?
2. Expresí noduline/glutamine synthetase-like protein se zvyšuje po působení abiotických stresových faktorů. Dochází také ke změnám v expresi γ -tubulinu? Co je známo o redistribuci γ -tubulinu za stresových podmínek u rostlin?
3. Nitriláza 1 tvoří fibrilární struktury a může interagovat s mikrotubuly. Jaká je Vaše představa o roli nitrilázy 1 při mitóze?

Závěr: Autorka prokázala dobrý přehled odborné literatury, aplikovala při svém studiu spektrum molekulárně biologických, imunochemických a mikroskopických technik a získala důležité prioritní poznatky v oblasti funkce γ -tubulinu a jeho nových interagujících proteinů u acentrosomálních rostlin. Autorka prokázala tvůrčí schopnosti a práce splnila požadavky kladené na disertační práci. Autorka má předpoklady k samostatné vědecké práci. Získané výsledky byly publikovány v renomovaných mezinárodních časopisech. Z uvedených důvodů

proto jednoznačně doporučuji práci k obhajobě (podle § 47 VŠ zákona 111/98 Sb.) a po jejím úspěšném obhájení udělení vědecké hodnosti PhD.

V Praze, 10. 2. 2012

doc. RNDr. Pavel Dráber, CSc.

oponent