



Jan Černý
Associate Professor of Immunology

CHARLES UNIVERSITY, FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT OF CELL BIOLOGY,
Viničná 7, 128 40 Praha 2, Czech Republic

Posudek na Ph.D. práci:

MYOSIN 1c ISOFORMS AND THEIR FUNCTIONS IN THE CELL NUCLEUS
AND IN THE CYTOPLASM

autor: Mgr. TOMÁŠ VENIT

doktorský studijní program: VÝVOJOVÁ A BUNĚČNÁ BIOLOGIE

I. Obecné komentáře:

Předložená dizertační práce se zabývá problematikou jednoho z nekonvenčních myozinů – myozinu 1C, který má u člověka tři isoformy vznikající z jednoho genového lokusu. Všechny tyto tři molekuly mají společnou více než 1000 aminokyselinovou část a jejich odlišnost spočívá v krátkém N-terminálním úseku. V podstatě náhodně, díky zkřížené reaktivitě jedné z protilátek proti isoformě B s jaderným proteinem, byl nasměrován výzkum funkce myosinu C do jádra (*pokusili jste se identifikovat protein, na který se tato protilátka váže?*). Postupně došlo k akumulaci velkého množství na této protilátce nezávislých experimentálních dat, jednoznačně prokazujících, že isoformy myozinu hrají řadu důležitých rolí uvnitř jádra a ovlivňují zde celou řadu procesů. Školící laboratoř je v této problematice na světově špičkové úrovni a je dobré zde zmínit, že většina toho, co víme o jaderných funkcích myosinu 1C pochází právě odsud.

Předložená dizertační práce nahlíží na téma myosinu 1C z několika stran, zabývá se identifikací specifických jaderných lokalizačních signálů, zapojením PIP2 (v kontextu specifické vazby na NM1) do regulace transkripce polymerázou I, hledáním cytosolických funkcí isoformy B (původně popsáné jako téměř výhradně jaderné) a snaží se postulovat specifické funkce jednotlivých isoform v celoorganismálním kontextu (pomocí myšího knock-out modelu). Celkem je dizertační práce založena na čtyřech publikacích, z nichž jedna je ve formě manuskriptu, další tři jsou již recentně vyšlé (1x2012 a 2x2013). Na jedné práci v PLOS ONE je Tomáš Venit prvním autorem, u ostatních (PLOS ONE a vysoce prestižní Journal of Cell Science) je spoluautorem. Kvalita publikací a jejich počet je dostatečný pro sepsání krátké formy dizertační práce, kde texty publikací, které kromě jedné prošly náročným recenzním řízením. Práce je psána velice kvalitní angličtinou s minimem překlepů a formálních nedostatků. Osobně bych uvítal trochu delší uvedení do problematiky – např. srovnání s ostatními členy rodiny myosinu 1, dále konzervovaností tohoto proteinu, jeho evolucí – a to včetně isoform. Důvodem je to, že evoluční přístup se může ukázat jako poměrně produktivní při hledání funkce – navíc fakt, že u člověka jsou přítomny tři isoformy, na rozdíl od myši, která má pouze dvě je sám o sobě zajímavý (*jak je to s isoformami myosinu 1c u dalších druhů?*). Kromě kvality anglického jazyka bych rád zdůraznil, že text je psán nejen gramaticky a stylisticky správně, ale hlavně chytře, vše dává dobrý smysl, je logicky provázáno, je zřejmé, že autor řešené problematice dokonale rozumí.

Dále bych chtěl ocenit fakt, že u všech publikací je jasně řečeno, jaká byla autorova role při jejich experimentálním designu, samotném experimentování i následném sepsování práce. Ze seznamu metodických přístupů, které si během své vědecké výchovy v laboratoři vedené prof. Pavlem Hozákem Tomáš Venit osvojil je jasné, že se stal komplexním experimentátorem schopným si klást relevantní otázky, navrhnout jejich experimentální řešení, testovat hypotézy a v neposlední řadě primární data přiměřeně a zodpovědně interpretovat.

II. Specifické komentáře:

Dále bych se chtěl věnovat jen jedné z prací: MOUSE NUCLEAR MYOSIN I KNOCK-OUT SHOWS INTERCHANGEABILITY AND REDUNDANCY OF MOUSE ISOFORMS IN THE CELL NUCLEUS, na niž je Tomáš Venit prvním autorem a u níž klíčovým způsobem přispěl ve všech stádiích její realizace.

Důvodem hledání významného fenotypu v myších plicích byla místní vysoká exprese NM1. Víte, který buněčný typ v tomto orgánu exprimuje největší množství NM1 – nemohou to být např. bronchoalveolární makrofágy zastoupené v plicích ve velké míře (nebo dendritické buňky), nesouvisející přímo s respirační funkcí?

„Učebnicovou“ funkcí myosinů je na aktinu a hydrolýze ATP závislá konformační změna využitá pro různé typy pohybů/generování tenze v buňce. Vámi pozorované myosiny zdá se fungují více jako adaptorové proteiny, nebo je možné stále uvažovat, že jejich jaderná aktivita je spojena s aktinem a že zde dochází k hydrolýze ATP a příslušné konformační změně? Jak si představujete zapojení myosinů (a to nejen izotypů myosinu 1c, ale i myosinů VI, Va, Vb, XVIIb a XVIIIb) do jejich již prokázaných jaderných aktivit (transkripce prostřednictvím RNA Pol I a II, remodelace chromatinu a pohybů chromosomů)?

Je možné, že specifický fenotyp absence myšního NM1 se ukáže dalšími experimenty (vztah k osmotickému stresu je zajímavou cestou). Nemáte nějaká data týkající se infekčních modelů – kde bývají prokázány např. defekty v dynamice plasmatické membrány ve vztahu k endocytickým a fagocytickým dějům? Sledovali jste aging (kdy se objevují překvapivé fenotypy), jakého věku se dožívají myši bez NM1?

Fenomén hyperchromické makrocytózy vysvětlujete abnormálním buněčným dělením během erytropoézy – jak si to představujete?

III. Hodnocení:

Dizertační práce Tomáše Venita je vysoce kvalitní a mohu ji tedy doporučit zkušební komisi jako důkaz uchazečovy kvalitní vědecké výchovy. Práci dále doporučuji ke kladnému hodnocení, neboť splňuje všechny formální a faktické požadavky kladené na doktorské práce obhajované v Oborové radě doktorského studijního programu Vývojová a buněčná biologie. Osobně přeji autorovi úspěšnou vědeckou kariéru, kterou již úspěšně zahájil v prestižní laboratoři ve stimulujícím prostředí Ústavu molekulární genetiky.