

OPONENTSKÝ POSUDEK

Disertační práce: „**Hledání mechanismů a funkce interakce mikrotubulárního cytoskeletu s dalšími složkami v rostlinné buňce**“

Autor: **Mgr. Jana Krtková**

Disertační práce Mgr. Jany Krtkové je zaměřena na studium proteinů asociujících s mikrotubuly (MAP) a na charakterizaci mechanismů působení hlinitých iontů v rané fázi stresové odezvy *Arabidopsis*. Doktorandka se věnovala objasnění fyziologických funkcí vybraných MAP, které interagují rovněž s plazmatickou membránou, a které tedy zprostředkují funkční a strukturní propojení mikrotubulárního cytoskeletu s dalšími komponentami buňky, konkrétně s plazmalemmou. Doktorandka se věnovala zejména Hsp90-MT. Prokázala jeho úlohu při reorganizaci mikrotubulů po chladovém stresu a při regulaci buněčného cyklu. Výsledky tohoto studia byly publikovány v minulém roce. Dále Mgr. Krtková stanovila sekvenci tabákového proteinu CLASP a vytvořila jeho fluorescenční markery. Pomocí těchto markerů lokalizovala CLASP v buňce, jak na kortikálních mikrotubulech, tak na hranách přepážek sousedních buněk.

Při studiu časných fází inhibičního působení hlinitých iontů na růst kořenů *Arabidopsis* doktorandka zjistila, že tyto ionty zvyšují rigiditu plazmatické membrány a inhibují endocytózu. Rovněž tato část disertační práce byla publikována.

Mgr. Krtková prokázala svou velmi dobrou orientaci ve studované problematice vypracováním kvalitního literárního přehledu. Metodická část práce je podrobná a přitom dostatečně přehledná. Dokládá, že doktorandka zvládla celou řadu molekulárně biologických technik. Zpracování výsledků a diskuse ukazují na aktivní přístup doktorandky. Zejména vysoce hodnotím kvalitu mikroskopických snímků, zachycujících lokalizaci sledovaných MAP a mikrotubulů, případně endoplazmatického retikula nebo aktinu. Seznam literatury zahrnuje velké množství citací. Podíl doktorandky na jednotlivých projektech je uveden velmi detailně.

Disertační práce je psána názorně. Některé formulace ale bohužel ukazují přílišný vliv angličtiny (např. na str. 16: “mikrotubuly-vazebná doména“, nebo na str. 61:

„mikrotubuly-vázající Hsp90 protein“). Práce obsahuje poměrně malé množství překlepů. Kvalita obrázků a snímků je velmi dobrá.

K práci mám několik dotazů:

- 1) Odezva na chlad je poměrně odlišná na světle a ve tmě, alespoň u intaktních rostlin. Působili jste chladem a zvýšenou teplotou ve tmě nebo na světle? Za jakých podmínek probíhalo zotavení (str. 38)?
- 2) Na Obr. 4-14 jste zachytila depolymeraci mikrotubulů po 1 hodině v 0°C nebo v 50°C. Mohla byste odhadnout, jak rychle k této depolymeraci dochází?
- 3) Na str. 57 uvádíte, že proteiny byly izolovány z rýžových koleoptilí proto, aby se ve vzorku nenacházely dělící se buňky. Z kterých částí koleoptile byly proteiny izolovány? Listy jednoděložných rostlin mají růstovou zónu v bazální části listu.
- 4) Jak byste vysvětlila rozdíl v dynamice CLASP u živočišných a rostlinných buněk (str. 91)?
- 5) Předpokládáte, že hlinité ionty *per se* stabilizují mikrotubuly a rovněž je depolymerují? Nebo by bylo možné Vaše výsledky interpretovat tak, že krátkodobý stres Al^{3+} vyvolává obranu, jejíž součástí je stabilizace mikrotubulů, déletrvající stres pak vede k vyčerpání obranyschopnosti buněk (např. vyčerpáním energetických zásob), což ve svém důsledku vede k depolymeraci mikrotubulů?

Závěr: Pokládám předloženou práci za vynikající, splňující všechny požadavky a proto doporučuji, aby byla přijata k obhajobě.

28. 12. 2012

RNDr. Radomíra Vaňková, CSc.