



Doc. RNDr. Pavla Binarova, Ph.D.
Institute of Microbiology, v.v.i.
Laboratory of Functional Cytology
Videnska 1083
142 20 Prague 4
Czech Republic

Phone +420-2-41062130
Fax +420-2-41062384
E-mail binarova@biomed.cas.cz
URL <http://www.biomed.cas.cz/mbu/lfc>

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci

Alžběta Kalendová

Function of actin and myosin 1c in the cell nucleus and in the cytoplasm.

Doktorská disertační práce Alžběty Kalendové je zaměřena na objasnění funkcí aktinu a myosinu 1c v jádře a v cytoplasmě. Role izoform jaderného myosinu NM1 a jeho interakce s aktinem není zatím zcela objasněna a informace o zapojení jednotlivých isoform NM1 do pochodů transkripce zatím chybí. V první části předkládané disertační práce je na 14 stranách dobře podán přehled současného stavu problematiky včetně vhodně modifikovaných přejatých ilustrací. Cíle práce jsou jasně formulovány. Výsledky jsou prezentovány ve formě publikací či rukopisů, které jsou součástí disertační práce. Text psaný v anglickém jazyce je kvalitní jak po stránce gramatiky, tak po stránce formulační. Podíl Alžběty Kalendové na pěti publikacích či rukopisech je jasně deklarován. Diskuse má 5 stran, závěr a shrnutí výsledků jsou obsažné a výstižné. Formální kvalita předložené disertační práce je dobrá. Drobné chyby a překlepy se vyskytují především v obou rukopisech. Zde jsou nepřesnosti i v některých formulacích, např. doporučuji používat k označení dvoujaderných buněk binuclear a ne binucleic cells. V mikroskopických obrázcích k rukopisům chybí označení popisovaného objektu či jevu (šipky atd), které by pomohly přehlednosti výsledků.

Výsledky experimentální práce Alžběty Kalendové získané v průběhu studia přispěly ke vzniku pěti publikací. Na dvou člancích, z nichž jeden je v recenzi a druhý ve formě rukopisu, je Alžběta Kalendová první autorkou a tyto články také sepsala. Jak je v disertační práci uvedeno, Alžběta Kalendová při svých experimentech používal řadu technik biochemických, RT-qPCR mikroskopické techniky a genotypování.

Alžběta Kalendová se zabýval jaderným aktinem a myozinem, jejich proteinovými interakcemi, dynamikou v průběhu buněčného cyklu a funkcí v živočišných buňkách. Výsledky ukázaly, že buněčná funkce jaderných myosinů je redundantní, pokud se týká jejich role v transkripci. Alžběta Kalendová byla zapojena do projektu zabývajícího se objasněním role fosfoinositidů v buněčném jádře a podílela se na charakterizaci PIP2 a jeho role na kotvení jaderných myosinů do lipoproteinových domén. Novým poznatkem je role jaderných myosinů v elasticitě plasmatické membrány. Zajímavé jsou výsledky o jaderných formách aktinu, kde po expresi spojené s nadprodukcí proteinu dochází k tvorbě vláken v jádrech. Tento jev brání přechodu buněk do mitózy a souvisí s častým výskytem buněk s aberantním dělením.

Dílicí připomínky k práci a otázky do diskuse

i) v rukopisu Kalendová et al., PIP2 targets myosin ... Fig 1D ukazuje kolokalizaci PIP2 a NM1 v jádře po imunofluorescenčním barvení, kolokalizace je doložena podobným profilem intenzity signalů (intensity profile) pro oba proteiny. Aplikovali jste na těchto preparátech jinou metodu kolokalizační analýzy, jaké jsou zkušenosti a výsledky?

ii) ukázali jste, že NMI/Myo1c a PIP2 complex je v nukleoplasmě volně a také jako součást lipidoproteinových mikrodomén. Jaké další experimentální přístupy zvolíte k objasnění toho, do jaké míry je dynamika tohoto komplexu důležitá pro jeho funkci v jaderných pochodech?

iii) jaké jsou mechanismy importu aktinu do nově rekonstituovaných jader po mitoze?

iv) vaše výsledky neznaly, že jaderná vlákna aktinu brání buňkám přejít do mitozy, máte představu o mechanismech tohoto mitotického bloku?

v) buňky s mikrojádry a dvoujaderné buňky vznikly v důsledku aberantních mitoz. Z textu není zcela zřejmé, zda to byly buňky s jadernými vlákny aktinu, které přešly do aberantní mitozy a cytokineze (čili blok mitozy nebyl úplný a byl překonán) nebo se jednalo o buňky s nadprodukcí aktinu bez tvorby vláken, které pak v mitoze a cytokinezi vykazují aberace. Statistika a *in vivo* analýza by mohly pomoci přesněji vyhodnotit a pochopit tento jev.

vi) máte nějaké údaje o jaderných interakcích aktinu, neuvažujete o forminy-zprostředkované nukleaci jaderného aktinu, která byla nedávno popsána u savčích buněk?

Závěr: Alžběta Kalendová prokázala dobrý přehled odborné literatury, aplikoval při svém studiu moderní molekulárně biologické, biochemické i mikroskopické techniky. Poznatky, které při studiu získala, obohatily oblast výzkumu role jaderných proteinů cytoskeletu konkrétně aktinu a myosinu. Předkládaná práce splňuje požadavky kladené na dizertační práci. Získané výsledky byly publikovány, jsou zaslány do tisku nebo jsou ve formě rukopisu před odesláním. Dle názoru oponenta je práce na dobré úrovni a dokládá schopnost předkladatelky k samostatné vědecké práci. Z uvedených důvodů proto doporučuji práci k obhajobě (podle § 47 VŠ zákona 111/98 Sb) a po jejím úspěšném obhájení udělení vědecké hodnosti PhD.