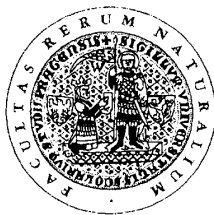


CHARLES UNIVERSITY PRAGUE



Faculty of Natural Sciences
✉ 128 44 PRAGUE 2, Viničná 5
Department of Genetics and Microbiology

Doc.RNDr.Jitka Forstová,CSc

☎ +420 +2 21951730, fax +420 +2 21951729

E-mail: jitkaf@natur.cuni.cz

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Alžběty Kalendové
„Function of actin and myosin 1c in the cell nucleus and in the cytoplasm“.

Disertační práce byla vypracovaná v Ústavu genetiky a mikrobiologie AVČR pod vedením prof. Pavla Hozáka. Jak název práce naznačuje, práce se zabývá izoformami t.zv. jaderného myosinu a jejich funkcemi v jádře i v cytoplasmě a také formami aktinu v buněčném jádře.

Ačkoliv přítomnost aktinu a aktinových motorů v buněčném jádře byla pozorována již před desítkami let, dlouho existovaly pochyby zdali se nejedná o experimentální artefakt či cytoplasmatickou kontaminaci. Dnes je zřejmé, že jaderný aktin a s ním asociované proteiny hrají roli v DNA transkripci a její regulaci, DNA replikaci, remodelování chromatinu a v dalších procesech. Aktin v buněčném jádře je využíván rovněž některými v jádře se replikujícími viry pro jejich cestu z jádra do cytoplasmy. Přes hromadící se informace bude ještě třeba mnoho experimentálního úsilí pro pochopení mechanismů akce aktinu a s aktinem interagujících proteinů v buněčném jádře. Disertační práce Mgr. Aleny Kalendové je příspěvkem k tomuto úsilí.

Práce je v podstatě souborem 4 manuskriptů původních prací, z nichž publikován je zatím pouze jeden „**Mouse nuclear myosin I knock-out shows interchangeability and redundancy of myosin isoforms in the cell nucleus**“ v časopise Plos one v roce 2013. Druhý manuskript (**Nuclear actin filaments recruits cofilin and Arp3 and their formation is connected with mitotic block**) byl zaslán do Histochemistry and Cell biology. Další dvě práce – „**Nuclear myosin 1 contributes to the elasticity of plasma membrane**“ a „**PI(4,5)P2 (Fosfatidyl inositol 4,5 bifosfát targets myosin 1c isoform into nuclear microdomains and mediates association of myosin 1c isoforms with transcription machinery,**“ jsou patrně připraveny

k odeslání do tisku. Práce obsahuje ještě jedno publikované review - „**Actin complexes in the cell nucleus: new stones in an old field**“, ve kterém je A. Kalendová čtvrtou z devíti autorů. (Publikováno v roce 2010 v Histochem. Cell Biol.). U každého manuskriptu je vyznačen podíl autorky. Z výčtu vyplývá, že A. Kalendová, kromě experimentální práce, tři ze čtyř manuskriptů také psala. Z manuskriptů je zřejmé, že adeptka odvedla velké množství experimentální práce během které získala řadu původních výsledků, které se, doufám, podaří brzy publikovat.

Manuskriptům předchází **Abstrakty** (v češtině a angličtině), dále anglicky psaný **Úvod** (Introduction; 13 stran) pojednávající o myosinech, zvláště pak o myosinech 1. třídy a o isoformách myosinu 1c. Další kapitola úvodu se zabývá aktinem, jeho interakcemi v cytoplasmě a v jádře a funkcí jaderného aktinu. Úvod je napsán stručně, avšak srozumitelně s velmi dobrou obrazovou dokumentací. Následuje jedna strana uvádějící **4 cíle** disertační práce, které jsou formulovány jako otázky. Za manuskripty přidala autorka **diskusi**, která je rozdělena na tři podkapitoly „Function of Myo1c isoforms in the cell nucleus and their interaction with PIP2“, „Function of Myo1c in the cytoplasm“ a „Actin in the nucleus“. Disertace je zakončena stranou závěrů a stručným výhledem - formulací otázek, které by měly být řešeny v budoucnosti. Práce je psaná dobrou angličtinou, avšak s občasnými prohřešky, převážně v interpunkci, což ztěžuje porozumění zvláště dlouhých vět, které se v textu vyskytují.

..

Připomínky a otázky k diskusi:

1. Dosud nepublikované rukopisy by zasluhovaly pečlivou revizi, vyskytují se v nich chyby, např.
Str. 42, 1 odst. výsledků - Western blot je na obr. 1A, nikoliv na obr. 2.
Str. 43 – Ve výsledcích není odkaz na obr. 2C při popisu STED mikroskopie.
Str. 53, Obr. 2: V popisu obrázku je chybně část B popsána jako A.
Str. 56 obr. 5 dvakrát slovo there.
2. Na straně 62 píšete, že PIP2 lokalizuje do speckles a lipidických mikrodomén. Z obrázku 1D usuzujete, že nadprodukovaný NM1 kolokalizuje s PIP2 a navíc, že se kolokalizace vyskytují pouze v PIP2 mikrodoménách. Nezkoušeli jste kolokalizaci NM1 s markery speckles? Z obr 1D vaše tvrzení nezní příliš přesvědčivě vzhledem k velmi slabému signálu NM1-EGFP v buněčném jádře
3. Co se ví o lipidických mikrodoménách na vnitřní jaderné membráně? Je s nimi také spojen PIP2 ?

4. Zdá se, že F aktin v jádře by mohl mít přirozené funkce Bylo publikováno, že MRTF-A (serum response factor and the myocardin related transcription factor A), je akumulován v jádře, když G-actin je depletován stimulací hladovějících buněk serem. Zatímco G-actin stimuluje export MRTF, polymerizace jaderného aktinu se zdá být důležitá pro aktivaci a retenci MRTF (např. M. J Hendze 2014). Polymerizace a depolymerizace aktinu v jádře je patrně velmi dynamický proces. Máte představu, jak by mohl být regulován? Je něco známo o případné regulaci Rho GTPasami?

Disertační práce Mgr. Kalendové je obsahuje řadu původních vědeckých výsledků a ukazuje na kvalitu autorčiny experimentální i interpretační práce. Mgr.Kalendová je spoluautorkou 1 publikovaného původního článku, jednoho publikovaného review a dále 3 manuskriptů původních prací zaslaných nebo připravených pro publikaci.

Doporučuji, aby práce byla přijata jako podklad pro další řízení k udělení doktorského titulu.

V Praze 20. 6. 2014

Jitka Forstová