

Posudek oponenta disertační práce

Doktorand: Mgr. Jan Fíla

Oponent: Doc. Jan Paleček, PŘF a CEITEC MU

Předkládaná disertační práce „*Úloha fosforylace proteinů v progamické fázi vývoje samčího gametofytu tabáku*“ je napsána velice přehledným způsobem s široce postaveným úvodem do problematiky, krátkým souhrnem publikovaných výsledků a obsáhlou diskusí těchto výsledků. Čtyři publikované články (dva experimentální a dva přehledové) tvoří přílohovou část. Nejvýznamnější z těchto článků (publikovaný v časopise *Molecular and Cellular Proteomics* s IF=6,5, kde je Mgr. Fíla prvním autorem) obsahuje hlavní část experimentální práce Mgr. Fíly, v které se podařilo identifikovat velké množství fosforylovaných proteinů v pylu tabáku.

K identifikaci byly využity obohacovací metody (MOAC) a hmotnostní spektrometrie. **Můžete prosím vysvětlit princip MOAC metody?** V různých fázích vývoje pylu byly identifikovány fosforylace různých proteinů. Překvapivě se ukázalo, že u většiny fosfoproteinů klesá jejich stupeň fosforylace (počet identifikovaných fosfopeptidů) v průběhu aktivace pylu. **Je možné, že nižší počty fosfopeptidů detekovaných v aktivací fázi by mohly být způsobené jinými faktory než je defosforylace či degradace fosfoproteinů? Jaké kontroly byly použity pro vaše měření? Jsou z literatury známé proteiny, jejichž fosforylační stav se v průběhu aktivace mění výše uvedeným způsobem – pokud ano, srovnajte vaše data s předchozími? Můžete prosím rozvinout vaši hypotézu, proč dochází k defosforylaci spíše než fosforylaci v průběhu aktivace pylu?**

V identifikovaných fosfoproteinech bylo nalezeno několik kinázových motivů. Dva z nich (xxxxxxS*DxExxx a xxxxxxS*xDDxxx) obsahují kyselá aminokyseliny v různých pozicích blízko fosforylovaného serinu. **Vystihuje tato vámi uváděná formule xxxxxxS*(D/E)(D/E)(D/E)xxx výše uvedené motivy správně?**

Zdá se, že důležitou roli v průběhu aktivace pylu hraje degradace proteinů (a de novo translace). **Identifikovali jste v rámci svých MS pokusů ubikvitinované proteiny (chystáte se na takovou analýzu)?**

Nejzajímavější skupinou proteinů pozorovanou v aktivovaném pylu se jeví proteiny s prozatím neznámou funkcí. Je možné, že alespoň některé z nich jsou specifické právě pro

tuto fázi vývoje rostlin (a proto jejich funkční charakterizace v běžných analýzách byla prozatím neúspěšná). **Můžete prosím provést procentuální srovnání zastoupení těchto proteinů (unknown/unclear) v celkovém proteomu tabáku versus ve vašich výsledcích? Můžete také srovnat velikost proteomu tabáku versus huseníčku?**

Závěr: Práce Mgr. Fily má vysokou odbornou úroveň a splňuje podmínky standardně kladené na disertační práce v oboru Biologie rostlin. Jednoznačně ji doporučuji k obhajobě.

V Brně 10.8.2016

Doc. Jan Paleček, Dr.