

Posudek školitele na diplomovou práci Ivana Kulicha "Interakcie podjednotiek exocystu Exo70 *Arabidopsis thaliana*" (Praha 2007).

Naše laboratoř se v minulých letech zaměřila na zjišťování, zda také u rostlin se vyskytuje oktamerní komplex exocyst a zda se podílí na regulaci buněčné polarity a morfogeneze. Po počáteční fázi bioinformatického průzkumu jsme se dostali ke konkrétním experimentům, které ukazují, že exocyst u rostlin skutečně existuje a podílí se na polarizované expanzi buněk.

Kolega Ivan Kulich dostal záhy po příchodu do naší laboratoře, ještě jako student druhého ročníku, napřed za úkol zaměřit se na interakce podjednotek komplexu exocyst, jak jsou popsány v literatuře u hub a živočichů. Jeho úsilí v tomto směru vyústilo v úspěšné obhájení bakalářské práce na toto téma a pokračovalo v jeho vlastních experimentech zaměřených na hledání interakcí podjednotek exocystu *Arabidopsis thaliana* (zvl. vybraných podjednotek Exo70). K tomu musel diplomant obnovit v laboratoři již dříve používanou techniku dvouhybridního screeningu v kvasince. Znovu musel ověřovat a příp. získávat hostitelské kmeny, optimalizovat přípravu kompetentních buněk a transformační proceduru, aby zvýšil transformační účinnost. Toto počáteční perné období mu nevzalo chuť do práce, i když musel překonávat řadu překážek.

Jeho práce měla dvojí těžiště – 1) testování případných interakcí s malými GTPázami typu Rop a Rab, protože exocyst byl popsán jako jejich efektor a 2) hledání nových interaktorů vybraných podjednotek Exo70. V případě interakcí s malými GTPázami byly výsledky negativní. Jak se ukázalo, ke stejnému závěru dospěli v případě bílkoviny Exo70A1 také kolegové z laboratoře Shaula Yalovského v Tel Avivu, kteří ovšem také zjistili, že u rostlin je, na rozdíl od situace u Opisthokont, interakce podjednotky exocystu Sec3 s Rop GTPázou prostředkována adaptorovým proteinem Icr1.

Velmi úspěšný byl naopak "lov" nových interaktorů podjednotek Exo70 – zde Ivan Kulich identifikoval a ověřil řadu kandidátů a v této práci nadále pokračuje s novými cDNA knihovnami. Velmi iniciativně objednal inzerční T-DNA mutanty *Arabidopsis* v genech kódujících interaktory a u jednoho z nich pozoroval defekt při vývoji semenných obalů. Toto pozorování pak vedlo diplomanta k prověření semenných fenotypů u mutantů *sec8* během téměř měsíčního pracovního pobytu u našich spolupracovníků v laboratoři Johna Fowlera na Oregonské státní univerzitě v Corvallis. Skutečně také u některých alel těchto mutantů byla pozorována porucha semenného obalu. Toto pozorování zásadním způsobem ukazuje na rostlinný exocyst jako faktor buněčné polarity související se sekretorickou dráhou.

Ivan Kulich si svým mimořádně aktivním přístupem k diplomové práci vytvořil předpolí, které mu, iak se naděieme, velmi usnadní další práci v rámci doktorandského studia.

Viktor Žárský

V Praze 23. 5. 2007