

Posudek na disertační práci Radovana Fišera

Radovan Fišer vypracoval svou disertační práci „Fluorescenční studie bakteriálních membránových proteinů a buněčné signalizace“ pod vedením školitele Dr. Iva Konopásk a konzultanta Ing. Petera Šeba.

Hlavním cílem práce bylo objasnění, jakým způsobem se dostává enzymová AC doména adenylát cyklázového toxinu bakterie *Bordetella pertusis* přes cytoplasmatickou membránu. Jedná se o velmi atraktivní problematiku z hlediska základního výzkumu, která má však i potenciální výstupy pro návrhy nových vakcín.

Nejdůležitější částí disertační práce jsou přílohy se čtyřmi publikacemi a jedním manuskriptem zaslaným do tisku. Ve třech z těchto pěti prací je Radovan Fišer prvním autorem. Jedná se vesměs o velmi hodnotné publikace časopisy s vysokým impakt faktorem (Biochim. Biophys Acta IF 3,998, 2x J.Biol.Chem. IF 5,581, Plos Pathogen IF 8,978).

Disertační práce obsahuje, po abstraktech v českém a anglickém jazyce, krátký úvod, ve kterém autor uvádí hlavní cíle práce. Následuje stručný literární přehled (cca 10 stran). Autor v něm věnuje pozornost struktuře a funkcím adenylátcyklázového toxinu a jeho jednotlivých domén. V závěru se věnuje roli vápníkové koncentrace v buněčných kompartmentech a jejich změn v signalizaci a dalších buněčných procesech. Literární přehled je napsán přes jeho stručnost srozumitelně, text je výstižný a dobře volený pro porozumění následujícím kapitolám.

Po literárním přehledu následuje kapitola „Publikace autora“, ve které je ke každé z 5ti autorových publikací jednostránkový komentář. V tomto komentáři je uveden stručný obsah publikované práce a také podíl jakým se na ní R. Fišer podílel. Tato část práce je uzavřena krátkou (cca 3 stránkovou) diskusí a seznamem literatury. Celá část disertace doprovázející autorovy publikace je pojata stručně. Vzhledem k tomu, že autor uvádí, že se sám podílel, nebo psal první verze některých z publikací, nepovažuji to za závadu.

Připomínky a dotazy k literárnímu přehledu:

Literární přehled str. 10, obr. 1: Bylo by vhodné popsat obr. tak aby bylo zjevné, kde je která doména (není jasné, co vyznačuje první bílý obdélník ve vztahu k popisovaným doménám).

Obr. 2, 6: Mělo by být uvedeno co je PBD: 1YRT nebo PBD:2ZVD.

Vzhledem k tomu, že autor neuvádí seznam zkratk, měl by, s ohledem na méně zasvěcené čtenáře, používat pro jeden termín pouze jednu zkratku a uvést ji poprvé, kdy daný termín uvádí, tj. např. pro repetitivní doménu už v textu před obr. 1 (označení rep nebo repetic se vyskytuje v obr. 2, RTX doména pak na str. 15 a dále)

Autor uvádí koncentrace vápníku v různých částech buňky. Jaká je koncentrace vápníku v buněčném jádře?

Otázky k diskusi:

Má autor nějakou představu jak vápník translokuje s AC doménou adenylátcyklázového toxinu (str. 25, publ. 3)?

Byly popsány toxiny, které mohou být internalizovány jak clathrinovými váčky tak váčky hladkými odvozenými od lipidových raftů. Zkoumali jste tuto možnost?

Je clathrinová endocytosa závislá na vazbě toxinu k integrinovému receptoru?

Internalizace transferinu do clathrinových váček a jeho transport časnými endosomy do recyklujících endosomů byl popsán jako velmi rychlý proces (v řádu minut). Endocytosa adenylátcyklázového toxinu clathrinovými váčky je zde popisována jako relativně pomalý proces. Čím si to autor vysvětluje ?

Kolokalizace s transferinem ani působení chlorpromazinu pro jeho pleiotropní účinky není jednoznačným důkazem clathrinové cesty. Pro clathrinovou endocytosu hovoří pokus s dominantně negativní mutantou proteinu Eps 15. V tomto pokuse však chybí negativní kontrola např. s Eps 15 -DIII Δ 2 mutantou, která neinterferuje s clathrinovou cestou. Zkoušeli autoři kolokalizaci s lehkým řetězcem clathrinu, nebo imunoelektronovou mikroskopii?

Přes uvedené drobné a diskusní připomínky, disertační práce R. Fišera je nadprůměrné kvality.

Závěrem:

Disertační práce Mgr. Radovan Fišera je velmi hodnotná. Autor v ní dokázal, že je výkonný experimentátor s velmi fundovaným teoretickým a metodickým zázemím. Autorovy 4 publikace a jeden dosud nepublikovaný manuskript mají vysokou experimentální úroveň. Dokladem jsou mimo jiné i vysoké impact faktory časopisů, které práce přijaly do tisku.

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