


Posudek školitele k diplomové práci Juraje Sekereše "**Analyza Sec5 podjednotky komplexu exocyst u rostlin**".

S Jurajem Sekerešem jsem se seznámil hned na počátku jeho studia biologie, když projevil zájem o účast na konferenci o experimentální biologii rostlin, která se konala v roce 2007 v Olomouci a které se jako zaujatý divák zúčastnil. Od počátku projevoval zájem o biologii jako nauku o životě obecně – nejen u úzké skupiny organizmů. Věnoval se dále vývojové biologii živočichů a, protože sám také četl a přemýšlel o vývoji rostlin, připravil velmi zajímavý seminář na naší Katedře experimentální biologie rostlin, ve kterém inspirativním způsobem srovnal vývojové procesy živočichů a rostlin.

Nepřekvapilo mě proto, když požádal o možnost začít na novém tématu diplomové práce u nás v laboratoři. Věděl, že studium exocystu nás vede nejen k pohledům do nitra buňky, ale že také pracujeme s živými transgenními a mutantními rostlinami *Arabidopsis*. Vzhledem k tomu, že začínal vlastně s ročním zpožděním snažili jsme se najít téma, které bylo alespoň okrajově dotčeno naší předchozí prací a metodický přístup, který by sliboval relativně rychlou možnost postupu. Zvolili jsme proto podjednotku exocystu Sec5, která dosud nebyla u rostlin hlouběji studována. Velkou pomocí pro Juraje byla možnost spolupracovat s doktorandem Matyášem Fendrychem, který učinil první krok – naklonoval podjednotku Sec5a v translační fúzi s GFP a byl Jurajovi velkou oporou v další práci – zvl. když zasvěcoval Juraje do tajů metodiky použití TIRF mikroskopie (TIRFM). Mezi naše původní plány také patřilo využití mechu *Physcomitrella patens* k transientnímu potlačování exprese exocystu – tento plán troskotal na nefunkčnosti příslušné plasmidové DNA, kterou nám poslali kolegové z USA. Přesto se Juraj mechem zabýval – získal ze stejné laboratoře v USA transgenní mech s GFP-značeným aktinem, který pozoroval a konal na něm některé farmakologické pokusy a naučil se také základnímu postupu imunofluorescenční lokalizace v laboratoři Františka Balušky v Bonnu. Do diplomové práce ovšem nakonec pronikla jen část jeho práce zvl. na transgenních rostlinách huseníčku exprimujících Sec5a GFP, které sám připravil. Naučil se také používat transientní exprese v listech tabáku po infiltraci *Agrobacterium tumefaciens*. Jádro jeho práce pak tvoří studium lokalizace této podjednotky exocystu *in vivo* – přes silnou cytoplasmatickou lokalizaci ektopického proteinu, jeho pozorování dokládají, že i tato podjednotka exocystu se silněji lokalizuje tam, kde probíhá intenzivní sekrece, včetně cytokineze. Nejzajímavější část práce tvoří pozorování dynamiky Sec5a pomocí TIRFM – a zvl. nejnovější předběžný popis možných exocytotických domén na PM. Navrhují diplomovou práci k obhajobě s hodnocením výborně.

V Praze 2. 9. 2011



Viktor Žárský