

Oponentský posudek na disertační práci

Jméno: Michaela Blažíková

Název disertační práce: Study of the organization and dynamics of the membraneless cell compartments

Aktuálnost řešeného tématu:

Oblast výzkumu zabývající se formací buněčných kompartmentů patří mezi priority řady významných vědeckých pracovišť na celém světě. I přes jejich velké úsilí, které trvá již několik let, se nepodařil najít konsenzus a doposud se živě diskutuje o vzniku a topologii buněčných struktur, či už membránových v cytoplasmě nebo bezmembránových hlavně v jádře. Jedná se zejména o eukaryotní buňky, kde je situace mnohem složitější v porovnání s prokaryotním modelem zejména z důvodu většího rozsahu genomu a existencí jaderného kompartmentu, odděleného od cytoplasmy jaderným obalem. Studium procesů vzniků bezmembránových struktur v eukaryotických buňkách je námětem i experimentální práce Mgr. Michaely Blažíkové. Jedná se o výzkum formování jadérka, Cajalových tělísek v jádře, tzv. P-bodies v cytoplasmě a tzv. MCC domén v plasmatické membráně.

Metodické postupy:

Výsledky, které tvoří podklad disertační práce, byly získány zejména na Fyzikálním ústavu Matematicko-fyzikální fakulty UK v Praze. Byly použity moderní metodické postupy fluorescenční mikroskopie včetně vizualizace dynamických dějů týkajících se komponentů daných buněčných struktur. Pro získání výsledků byly použity špičkové mikroskopické systémy: např. mikroskop se „spinning“ diskem nebo „DeltaVision“ systém. Výsledky byly analyzovány matematickými přístupy použitím softwaru Matlab. Kromě toho byly použity Monte Carlo simulace zejména syntézy pre-ribosomálních částic v buněčném jádře a následného formování jadérka. Spolehlivost metodických postupů byla nepochybně předmětem odborného posouzení v rámci recenzního řízení při publikaci originálních článků.

Výsledky práce:

Výsledky, komentované v disertační práci byly publikovány v časopisech s IF: Molecular Biology of the Cell (3x – v jednom z nich je Mgr. Blažíková první autorkou) a Plos One. Jeden rukopis, kde je doktorandka první autorkou, je připraven k zaslání do recenzního řízení. Výsledky Mgr. Blažíkové byly rovněž publikovány ve čtyřech konferenčních sbornících. Tyto výsledky přinášejí nové významné poznatky, které se mohou stát součástí obecných poznatků o mechanismu formace makromolekulárních struktur jak v jádře, tak i v cytoplasmě. V disertační práci je podán jejich přehled, ze kterého chci vyzvednout:

1. matematický model simulace kompletace jadérka na základě volné difúze a entropicky poháněné interakce mezi částicemi,
2. matematický model dezintegrace jadérka na základě inhibice ribosomální transkripce,
3. návrh modelu, ve kterém je kvantitativnímu popisu kinetiky skládání jednotlivých snRNP v Cajalových tělískách,
4. zjištění, že rozmístění kortikálního endoplasmatického retikula podél plasmatické membrány závisí na přítomnosti specifických membránových invaginací a s nimi spojených cytosolických komplexů, eisosomů.

Formální zpracování disertace:

Kvalita formálního zpracování předložené disertace je na vysoké úrovni. Práce je psaná v anglickém jazyce, což umožní seznámení se s prací i zahraničním odborníkům. Počet stran 171, z toho úvod a přehled problematiky 30 stran, pak následují cíle, použité metody, výsledky spojené s diskuzí (4 subprojekty, 91 stran), všeobecní diskuze (4 strany), seznam prezentovaných publikací, souhrn a bibliografie. Závěrem jsou přiloženy seznamy zkratk, použitých protilátek, plazmidů, kvasinkových kmenů a rovněž CD obsahující dizertační práci a všechny publikace doktorandky.

Celkové hodnocení práce:

Disertační doktorská práce předložena Mgr. Michaelou Blažíkovou na Matematicko-fyzikální fakultě UK v Praze je zpracována s přehledem a s hlubokou znalostí dané problematiky. Interpretace výsledků je na vysoké odborné úrovni. Práce přináší nové významné poznatky v oblasti zkoumání formování zejména bezmembránových buněčných kompartmentů. Zvolené metodické postupy a dosažené výsledky mohou ukázat i na nové přístupy při bádání strukturně-funkční organizace eukaryotické buňky. Autorka prokazuje, že je vysoce kvalifikovaným badatelem schopným samostatné tvořivé práce, která povede k posunu vědeckého poznání. Proto jsem přesvědčen, že disertační práce Michaely Blažíčkové zcela splňuje požadavky k jejímu přijetí jako podkladu k úspěšnému završení doktorského studia.

Dotazy a náměty k diskuzi:

1. Lze uvažovat o samo-organizaci i v případě membránových struktur?
2. V diskuzi byl zmíněn problém „large-scale“ organizace jádra kvasinek. Může autorka uvést svůj názor na organizaci chromatinu s ohledem na genovou expresi a samo-organizačními procesy?
3. Jadérko a Cajalovo tělísko jsou jediné jaderné struktury, které mají charakteristickou morfologii (v elektronové mikroskopii je možné je snadno identifikovat bez specifického značení). Jak lze tuto skutečnost vysvětlit ve spojitosti s vysokou dynamikou dějů probíhajících uvnitř těchto struktur a se zásadním působením entropických interakcí?

V Praze, dne 28. ledna 2014

Doc. RNDr. Dušan Cmarko, Ph.D.