

Oponentura disertační práce Mgr. Jany Uhlířové

Krátké shrnutí

Předmětem předkládané disertační práce Mgr. Jany Uhlířové je stadium proteinu TPR v jaderných pórech, organizaci chromatinu a v průběhu myogeneze. Problematika organizace chromatinu a kontrola genové exprese jsou velmi aktuální témata jak v buněčné tak i vývojové biologii. Hlavním přínosem práce je rozpoznání významu TPR v potlačení heterochromatinu v oblasti jaderných pórů a jeho vliv na expresi genů účastnících se svalové diferenciaci. Práce je založena na třech již publikovaných článcích a jeden další je v přípravě. Mgr. Uhlířová je na jedné práci prvním autorem a na dalších spoluautorem.

Formální náležitosti práce

Členění práce i rozsah odpovídají zvyklostem. Práce je psána v angličtině, přičemž jazykovou úroveň hodnotím jako výbornou. Literární úvod v rozsahu přibližně 20 stran poskytuje ucelený přehled o organizaci jaderných pórů a dosud známých funkcích proteinu TPR. Metodická část je popsána srozumitelně a dostatečně podrobně. Výsledky jsou popsány logicky, přičemž k dobrému porozumění přispívá i zdařilá vizuální prezentace především mikroskopických dat. Pozitivně hodnotím i poctivé přiznání některých technických problémů, jejichž příčiny i důsledky jsou patřičně diskutovány.

Metodické aspekty práce

Hlavními metodikami využitými v této práci jsou různé formy konvenční i superresoluční mikroskopie včetně pokročilé analýzy obrazu. To do jisté míry ovlivnilo celkový charakter práce, který je do značné míry popisný. Pro studium příčinných souvislostí mezi proteinem TPR a organizací chromatinu byla využita adekvátní metodika deplece transkriptu prostřednictvím RNA interference. Pro odlišení funkce TPR v pórech a na chromatinu by bylo vhodné manipulovat krátkou kódující sekvencí zodpovědnou za vazbu na NPC proteiny. Jako zajímavý hodnotím C2C12 buněčný model pro indukci myogeneze, který umožnil rozpoznat význam TPR pro expresi vybraných genů účastnících se tohoto procesu. Vazba TPR na chromatin byla vyhodnocena pomocí moderní metodiky chromatinové imunoprecipitace spojené se sekvenováním nové generace.

Doplňující otázky

1. V práci popisujete jaderná filamenta tvořená proteinem TPR. Zaujala mě jejich velmi uspořádaná vertikální orientace. Zajímalo by mě, jakým způsobem buňka rozpozná orientaci v 3D prostředí a jak se tato informace přeneše na organizaci strukturních proteinů.
2. Vysvětlíte prosím blíže pojem actin cap, který v práci zmiňujete.
3. Výsledky chromatinové imunoprecipitace ukazují, že se protein TPR váže na velmi významnou část genomu respektive chromatinu. Předpokládám, že takto silná vazba musí být nějak strukturně podmíněna. Vysvětlíte, jakým způsobem je tato vazba zprostředkována, případně uveďte možnosti.
4. V práci uvádíte možnou funkci TPR v mitoze. Na druhou stranu, z výsledků v Obr. 11a vyplývá, že při depleci TPR buňky proliferují déle než buňky kontrolní. Pozorovali jste nějaké morfologické defekty v uspořádané dělicího vřeténka, buněčných jader případně v délce trvání mitozy?

Předkládaná práce přináší nové poznatky o organizaci chromatinu a genové expresi v průběhu časných fází myogeneze. Studentka si osvojila řadu klasických i moderních experimentálních postupů a prokázala schopnost samostatné vědecké práce. Dle mého názoru práce splňuje všechny požadavky, a proto ji doporučuji k obhajobě a k udělení titulu PhD.