

OPONENTSKÝ POSUDEK NA DISERTAČNÍ PRÁCI

Autorka práce: Mgr. Zuzana Naháčka

Název práce: „Kanonické a nekanonické signální dráhy aktivované receptory pro ligand TRAIL v lidských buňkách“

Oponent: prof. RNDr. Jan Vondráček, Ph.D., Biofyzikální ústav AV ČR, Brno

Předložená disertační práce byla vypracována v anglickém jazyce a tematicky vychází zejména z publikovaného prvoautorského článku autorky (Nahacka et al., TRAIL induces apoptosis but not necroptosis in colorectal and pancreatic cancer cells preferentially via the TRAIL-R2/DR5 receptor, *BBA - Molecular Cell Research* 1865: 522–531), publikovaného v loňském roce a dalších studií, na kterých se autorka částečně podílela. Práce je členěna tradičním způsobem na teoretický úvod, popis použitých metod, část výsledkovou, diskusi a závěr. Úvodní teoretická část stručně a konzistentně popisuje hlavní rysy různých typů programované buněčné smrti, na něž je práce zaměřena, tedy apoptózy a nekroptózy, a podrobně popisuje současné poznatky o signálních drahách spojených s působením TRAIL, významného induktoru tzv. vnější dráhy apoptózy z rodiny TNF- α . I když by se v samotném textu daly odhalit drobné stylistické a gramatické nedostatky, jeví se tato část jako dobře připravená a zpracovaná. Jednotlivé kapitoly odkazují vesměs na recentní literární zdroje a ilustrace jsou vhodně zvoleny. Vzhledem k tématu práce, by možná bylo vhodné obsáhleji komentovat působení různých typů „death ligands“ v závislosti na typu orgánu či typu nádorového onemocnění, ale tyto informace jsou posléze alespoň částečně komentovány v diskusní části práce. Cíle samotné práce jsou shrnuty na s. 41 a odpovídají struktuře výsledků.

Část práce popisující použitou metodiku je dostatečně podrobná a obsahuje všechny nezbytné informace – zde bych jen rád položil dotaz, zda autorka sama prováděla všechny popisované metody, a má s nimi tedy praktické zkušenosti? Část výsledková poté shrnuje 3 skupiny výsledků: působení různých variant TRAILu v buněčných modelech odvozených od kolorektálního karcinomu a nádoru pankreatu, které je hlavním tématem disertace i publikované prvoautorské práce; působení TRAILu v lidských ES a iPS buněčných modelech; a zcitlivění nádorových buněk k působení TRAILu prostřednictvím Manumycinu A a příbuzných sloučenin. Tyto části jsou dobře a přehledně zpracovány a poskytují dostatečný

přehled o tématu práce, konfrontují data práce s aktuální literaturou a vyvozují vesměs opodstatněné závěry. Konkrétní připomínky k experimentální a diskusní části jsou formulovány níže.

Konkrétní připomínky k experimentální části a diskusi:

V rámci výsledků a diskuse jsou v disertaci vesměs prezentovány výsledky, které již prošly standardním oponentním řízením v průběhu publikačního procesu. Nicméně z prezentovaných dat vyplývají některé otázky, které by měly být diskutovány v rámci obhajoby předložené dizertační práce:

1. Jaká kritéria byla v případě první části použita pro výběr modelů nádorových buněk – z jakého hlavního důvodu byly zvoleny právě nádory tlustého střeva a pankreatu?
2. Z výsledků vyplývá, že ligandy aktivující preferenčně DR5 byly účinnějšími induktory apoptózy nádorových buněk – je něco také známo o interakcích těchto ligandů s decoy receptory pro TRAIL, jako jsou DcR1 a 2, a mohly by tyto případně ovlivňovat jejich účinnost?
3. Jsou DR5-specifické ligandy účinnými induktory apoptózy také u jiných modelů buněčných linií odvozených od kolorektálního karcinomu, resp. co je známo o působení TRAILu samotného na tento typ nádorů?
4. V části zabývající se působením TRAILu v buněčných modelech lidských kmenových buněk autorka ke zvýšení jejich citlivosti využívá snížení exprese jednoho z významných inhibitorů apoptózy, proteinu c-FLIP. Proč byl zvolen právě tento protein a co je známo o expresi c-FLIP v kmenových buňkách pokud je porovnáme s více diferencovanými typy buněk?
5. V závěrečné části práce autorka prezentuje výsledky poukazující na možnou úlohu zvýšené tvorby ROS v mitochondriích jako faktoru posilujícího mitochondriální dráhu buněčné smrti. Jaký by byl možný mechanismus působení Manumycinu A na tvorbu superoxidu a může tato sloučenina narušovat funkce proteinových komplexů dýchacího řetězce?

Závěrem konstatuji, že předložená dizertační práce představuje, po obsahové i formální stránce, kvalitní výstup postgraduálního studia. Autorka prokázala své tvůrčí

schopnosti a předložená práce splňuje požadavky v programu Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie. Proto doporučuji, aby byla práce přijata k obhajobě a dalšímu řízení. Rovněž doporučuji, aby byl autorce po úspěšné obhajobě práce přiznán vědecký titul Ph.D.

V Brně dne 12. 4. 2019

prof. RNDr. Jan Vondráček, Ph.D.
Biofyzikální ústav AV ČR, v.v.i.
Královopolská 135
612 65 Brno