

Oponentský posudek

na dizertační práci Mgr. Moniky Šťastné s názvem „The role of the Msx1 transcription factor in the intestinal epithelia and colorectal cancer“.

20. 5. 2019
v Praze

Vážený pane předsedo a členové komise,

je mojí milou povinností posoudit dizertační práci Mgr. Moniky Šťastné, kterou vypracovala v oboru Vývojová a buněčná biologie na PřF UK pod vedením RNDr. Vladimíra Kořínka, CSc. Práce je založena na dvou publikacích, v jedné se účastnila jako první autorka a v druhé coby spoluautorka. Jedná se o články v recenzovaných zahraničních časopisech. Součástí anglicky psané práce je čtivý literární přehled, rozsáhlá kapitola shrnující metody a následující výsledky rozdělené do čtyř částí. První tři se věnují Msx1 transkripčnímu faktoru a souvisí s prvoautorskou publikací. Poslední část výsledků se zabývá proteinem Hic1 a experimentům, na kterých má autorka svůj podíl a týkají se druhé publikace. Po shrnutí výsledků autorka diskutuje získané poznatky v kontextu publikovaných dat a nabízí hypotézy neobjasněných jevů. Text doplňují rozsáhlé reference (429 citací) a přiložené publikované články. Je třeba zmínit, že se autorka během doktorského studia podílela na dalších čtyřech publikacích. Práce odpovídá formálnímu zadání.

Moje komentáře či otázky jsou faktické.

1. Zkoumaný protein Msx1 se vyskytuje v ektopických kryptách střeva po indukci karcinogeneze. Tyto krypty jsou vchlípeniny dělících se buněk mezi diferencovaný epitel klku. Autorka diskutuje možný vznik „ektokrypt“ a přiklání se k hypotéze, že buňky takové aberantní krypty mají původ v „pravé“ fyziologické kryptě střeva nacházející se na bázi klků. Možnost dediferenciace hodnotí jako málo pravděpodobný. Jaký experiment by autorka navrhla, aby potvrdila či vyvrátila svou hypotézu?
2. Jestliže izolované krypty střev lze pěstovat in vitro, kde vytváří organoidy s plně diferencovanými buněčnými typy (enterocyty, pohárkové a enteroendokrinní buňky), mají tuto schopnost i ektopické krypty?
3. Protein Msx1 nelze detekovat ve zdravých střevech dospělé myši (pouze RT PCR metodou v kryptách). Expresce stoupá teprve po deregulaci dráhy Wnt. Bylo by možné předpokládat, že během embryogeneze při formování střev hraje Msx1 v kryptách obdobnou roli? Tedy vytváření nových krypt? Lze Msx1 či Msx2 detekovat ve vyvíjejících se střevech?
4. Transkripční faktory Msx1 a Msx2 jsou cílové geny dráhy Wnt. Jak si autorka vysvětluje, že expresce těchto targetů nereaguje na aktivaci Wnt dráhy na úrovni proteinu Wnt3a nebo inhibice GSK3β? Proč je nutná aktivace skrze mutantní APC?
5. Zaujal mě též experiment izolace Lgr5 pozitivních buněk pomocí průtokové cytometrie. Z analýzy buněčné populace vyplývá, že existují malé a velké kmenové buňky, které se lehce

liší expresí Msx1. Lze histologicky určit, kde jsou v kryptě situovány? Představují odlišnou kvalitu buněk?

6. Gen pro STK32B je jediným signifikantním genem se změněnou expresí u myši s delecí Msx1 a APC vzhledem ke kontrole, kde je Msx1 v pořádku na APC deletovaném pozadí. Je STK32B přímým cílovým genem transkripčního faktoru Msx1? Je znám substrát pro STK32B?

Vzhledem k jasné kvalitě článků nepochybuji o tom, že Mgr. Monika Šťastná je oprávněna získat titul PhD a já tento návrh jednoznačně podporuji.

Mgr. Lenka Doubravská, PhD.