



OSTRAVSKÁ UNIVERZITA  
LÉKAŘSKÁ FAKULTA

## Oponentský posudek disertační práce

**Název disertační práce:** The role of glycolytic enzymes in the development of cancer and metabolic disorders.

**Jméno doktorandky:** Ing. Daniela Šimčíková

**Školitel:** RNDr. Petr Heneberg, Ph.D.

Univerzita Karlova v Praze, 3.Lékařská fakulta, Centrum pro výzkum diabetu, metabolismu a výživy

**Oponent:** RNDr. Michal Šimíček, PhD.

Ostravské univerzita, Lékařská fakulta, katedra interních oborů

Primárním cílem této disertační práce bylo studium molekulárních mechanismů funkce hexokináz u člověka a posouzení možnosti využít predikční algoritmy v personalizované medicíně. Důraz byl kladen zejména na pochopení významu somatických mutací hexokináz u diabetu a nádorových onemocnění. Disertační práce je rozdělena do pěti úzce souvisejících a vzájemně propojených projektů, přičemž čtyři studie jsou již publikované v respektovaných mezinárodních časopisech.

V první části se autorka zabývá experimentální validací predikčních algoritmů pro enzymatickou aktivitu mutantů glukokinázy u rozsáhlé kohorty pacientů s diabetickými syndromy. Na základě zjištěných dat byl optimalizován a navržen nový predikční model, který výrazně vylepšil v současnosti dostupné metody. Druhá část byla více technického rázu, kdy bylo cílem identifikace optimálního pH pro gluko- a hexokinázy a zejména posouzení efektu vysoké koncentrace ATP v reakčním pufru. Dále se autorka věnuje přímému významu somatických mutací glukokinázy v regulaci nádorového metabolismu. Nejnovější je práce, která kombinuje dvě nezávislé mutační databáze geneticky podmíněných onemocnění s experimentálními daty a využívá evoluční variační analýzu za účelem dalšího zdokonalení predikčního potenciálu. Nakonec se autorka věnuje molekulární charakterizaci signalizace u buněk s delecí hexokinázy 1. V rámci této disertační práce autorka aplikuje řadu metodologických postupů od čistě biochemických experimentů, přes genetické manipulace buněčných linií až po využití databází, statistické programy a predikční algoritmy.



OSTRAVSKÁ UNIVERZITA  
LÉKARSKÁ FAKULTA

Autorka ve své práci dodržela veškeré požadavky na formální náležitosti disertační práce včetně úpravy. Vyzvednout je nutné zejména velmi bohatý seznam zdrojů, ze kterých byly poznatky čerpány a četné retence svědčící o erudovanosti autorky. Jako jedinou drobnou vadu bych poukázal na občas nedokonalý anglický překlad, což ovšem neubírá na obsahové stránce této práce. Dále je několikrát v textu chybně uvedena ubiquitinylace HK2 na Lys63, případně p53 na Lys48. Správně by mělo být ubiquitinylace HK2/p53 Lys63/Lys48-konjugovanými ubiquitinovými řetězci.

V průběhu obhajoby by bylo vhodné odpovědět na následující otázky:

1. V rámci analýzy efektu mutací GCK a hexokináz byla měřena aktivita enzymu v *in vitro* podmínkách. Může tento přístup vést k potencionálním false-positive nebo false-negative výsledkům, zejména ve vztahu k aktivitě enzymu u pacienta? Jaký by byl alternativní přístup?
2. Připravené HK1 knock out buněčné linie vykazovaly radu změn v expresi metabolických proteinů a naznačují na aktivaci EMT. Nedávno publikovaná práce (Tseng et al., 2019) potvrzuje EMT fenotyp u buněk ovaria se sníženou expresí HK1. Tato práce však ukazuje na dramatické zvýšení exprese HK2 u HK1 knock down buněk. Jak si tuto diskrepanci v datech vysvětlujete?

Závěrem konstatuji, že předložená disertační práce splňuje obsahové i formální nároky a doporučuji její akceptaci v rámci obhajoby.

V Ostravě dne 20.1.2020

RNDr. Michal Šimíček, Ph.D.