



**POSUDEK NA DIZERTAČNÍ PRÁCI Mgr. Šimona Borny**

**REGULATION OF LEUKOCYTE SIGNAL TRANSDUCTION BY MEMBRANE ADAPTOR PROTEINS**

Předložená dizertační práce je zaměřena na velice aktuální téma molekulárních mechanismů přenosu signálu v buňkách imunitního systému, včetně vývoje nových pokročilých metodik. Školící laboratoř se dlouhodobě zaměřuje na pochopení základních otázek fungování imunitních dějů na molekulární úrovni, včetně hledání funkce nově objevených molekul, typicky transmembránových adaptorových proteinů. Předložená práce je velice dobrým příkladem snahy pochopit **skutečné** mechanismy fungování tak složitého fenoménu, jakým je buněčná signalizace, a to mj. na jednom z nejstudovanějších a nejkompetitivnějších modelů - signalizace přes klíčové receptory imunitního systému – TCR a BCR. Je svým způsobem překvapivé, jak zásadní otázky v tomto kontextu zůstávají nezodpovězeny. Autor se snaží kriticky testovat stávající modely, přichází s vlastní hypotézou, vše s pomocí sofistikovaných experimentálních systémů, které vyžadují přípravu velkého množství genových konstruktů, modifikovaných buněčných linií, práce s primárními buňkami, biochemické přístupy, pokročilou průtokovou cytometrii i světelnou mikroskopii. Zvláště v kontextu studia možné funkce adaptorového proteinu WBL1L (OPAL1) je evidentní, že si osvojil široké portfolio metodické erudice, obecně v kontextu celé práce je zřejmé, že mu nechybí kritické myšlení, hluboký vhled do řešené problematiky, potažmo kreativita a originalita.

Předložená dizertační práce je založena na 3 již vyšlých publikacích v kvalitních biomedicínských časopisech (1x Šimon Borna jako první autor) a manuskriptu (prvoautorství) v recenzním řízení ve velice kvalitním žurnálu. Kvalita i kvantita prezentované publikační produkce je zcela dostatečná pro absolvování doktorského studia oboru Imunologie na PFF UK. V práci je dále jednoznačně určen podíl autora na jednotlivých publikacích, i z toho je zřejmé, že Šimon Borna pod vedením školitele Tomáše Brdičky získal velice kvalitní vědeckou přípravu a průpravu.

V předložené práci se navíc snoubí obsahová kvalita s kvalitou formální. Šimon Borna se formátu své práce zhostil velice dobře, sepsal ji velice dobrou angličtinou s minimem formálních nepřesností (jediné slovo několikrát použité, které mi v příslušných kontextech nesesedělo je „apparatus“, možná se ale jedná jen o mé osobní jazykové nastavení), kdy vhodně balancoval v literárním přehledu mezi nezbytnými obecnostmi a nutností detailně vysvětlit příslušné molekulární mechanismy. Úvodní část velice kvalitně zpracovaným a čtivým způsobem na cca 20 stranách představuje recentní publikované informace o TCR a BCR signalizaci, adaptorovými proteiny (WBP1L a PSTPIP2), velice zajímavě a kriticky jsou pojaty části věnované ubiquitin ligázám (rodiny NEDD4) a signalizaci prostřednictvím CXCR4. Velice dobře formulované jsou cíle jednotlivých projektů, dále mimořádně zdařilá část věnovaná diskusi získaných výsledků, která je kritická, uvádějící do obecných kontextů a jednoznačně prokazující autorovu erudici! Použité literární zdroje jsou reprezentativní a v řadě ohledů vyčerpávajícím přehledem relevantní literatury.

Je evidentní, že Šimon Borna dobře využil času, který strávil jako diplomant i doktorand ve školitelské laboratoře. Dále je zřejmé, že předložená práce je jeho originálním autorským dílem, což myslím mohu poměrně dobře zhodnotit jako jeden z častých oponentů zde vznikajících bakalářských, diplomových a dizertačních prací. Jak již bylo zmíněno v příslušných publikacích je jednoznačně definovaný podíl, který spolu s použitá metodickou šíří a hlubokým vhledem do studované problematiky přesvědčivě dokumentované v diskusi na konci práce jsou jednoznačným argumentem pro udělení titulu Ph.D. za jménem.

Na závěr bych měl jen několik dotazů, někdy obecnější povahy:

1. *Práce se sice věnuje jednomu typu TCR – TCR $\alpha\beta$ , myslím ale, že zajímavé by mohlo být srovnání všech tří typů receptorů pro antigen, tedy TCR $\alpha\beta$ , TCR $\gamma\delta$  a BCR. Mohl by autor stručně zmínit např. jakou roli hrají SFK při přenosu signálu přes TCR  $\gamma\delta$  (a obecně rozdíl v mechanismech signalizace mezi  $\alpha\beta$  a  $\gamma\delta$  T lymfocyty, případně mezi různými subpopulacemi  $\alpha\beta$  T lymfocytů), v kontextu toho že  $\gamma\delta$  T lymfocyty hrají unikátní a velice důležitou roli v rámci orchestrace imunitních buněk i svými efektorovými funkcemi?*
2. *Text se věnuje obecným konceptům, platí zmiňované rozdíly v signalizaci TCR a BCR ve všech studovaných T- a B- lymfocytárních buněčných a diferenciacích kontextech (např. NKT buňky, B1 vs. B2 buňky)?*
3. *V práci je zmíněno, že exprese SYK probíhá v některých T-buněčných populacích. O které se jedná?*
4. *V práci je zmíněno, že BCR se vyskytuje na povrchu B-lymfocytů ve formě „tightly packed oligomers“ – jaká je povaha této oligomerizace?*
5. *Jsou známy genové polymorfismy PSTPIP2 korelující u člověka s nějakým fenotypem?*
6. *Mimořádně zajímavé je pozorování kompenzace funkce WBP1L, pokud dojde ke ztrátě v germinální linii. Můžete si zspekulovat, jaký by mohl být příslušný mechanismus?*
7. *Na straně 39 je diskutována možná role osteoklastů v kostním zánětlivém procesu. Rád bych slyšel širší kontext, na jehož základě jste podíl tohoto buněčného typu na patogenezi pozorovaného zánětu vyloučili.*

Na závěr bych chtěl konstatovat, že předložená dizertační práce Mgr. Šimona Borny je velice kvalitní a prokazuje nejen autorovu vědeckou erudici, ale i schopnost srozumitelným způsobem formulovat složitá vědecká fakta a hypotézy. Dizertační práce „REGULATION OF LEUKOCYTE SIGNAL TRANSDUCTION BY MEMBRANE ADAPTOR PROTEINS“ splňuje požadavky kladené na Univerzitě Karlově, Přírodovědecké fakultě na kvalifikační práce doktorského studia a jednoznačně ji doporučuji k obhajobě.

v Praze 20.5.20

prof. RNDr. Jan Černý, Ph.D.