



Faculty of Science
CHARLES UNIVERSITY IN PRAGUE



JAN ČERNÝ
Professor of Cell Biology

CHARLES UNIVERSITY, FACULTY OF SCIENCE
Department of Cell Biology
Viničná 7, 128 40 Praha 2
Czech Republic
Phone: (+420) 2 4106 1795
E-mail: jan.cerny@natur.cuni.cz

POSUDEK NA DIZERTAČNÍ PRÁCI Mgr. Moniky Bambouskové

Molecular mechanisms of regulation of FcεRI signaling in mast cells

Předložená dizertační práce je sepsána ve zkrácené formě (ospravedlněné vysoce nadstandardním počtem publikačních výstupů) na velice aktuální téma a to s použitím celého spektra moderních relevantních metodik. Monika Bambousková se formátu práce zhostila velice dobře. Jednak práci sepsala velice dobrou angličtinou s minimem formálních nepřesností, kdy v literárním přehledu dobře balancovala mezi nezbytnými obecnostmi a nutností detailně vysvětlit příslušné molekulární mechanismy. Úvodní část velice kvalitně zpracovaným a čtivým způsobem představuje na 18 stranách recentní publikované informace tematizované žírnými buňkami, signalizací prostřednictvím FcεRI, transmembránovými adaptorovými proteiny či rolí cytoskeletu při aktivaci žírných buněk. Zvláštní důraz je zde logicky věnován uspořádání plasmatické membrány. Dále práce obsahuje impresivní strukturovaný výčet cílů a podcílů a přehled použitých metod. Použité literární zdroje jsou reprezentativním a v řadě ohledů se jedná o vyčerpávajícím přehled relevantní literatury. Součástí práce je detailní rozbor podílu Moniky Bambouskové na jednotlivých publikacích, které jsou součástí dizertační práce z pera jejich korespondujícího autora a školitele práce v jedné osobě, RNDr. Petra Drábera, DrSc. Je evidentní, že podíl autorky na příslušných pracích je významný a to nejen po stránce provedení experimentů, ale i jejich hodnocení, interpretace a sepisování publikací.

Je dále zřejmé, že Monika Bambousková účelně využívá skvělého intelektuálního a metodického zázemí školitelské laboratoře, kde jsou kladeny základní otázky po molekulárních a buněčných mechanismech obecných imunologických signalizačních dějů a ty jsou pak zodpovídány pokročilými metodami molekulární a buněčné biologie a proteinové biochemie. Celkově je použitá metodická šíře a hluboký vhled do studované problematiky přesvědčivě dokumentovaná, a to jak v úvodním literárním přehledu, tak v diskusi a shrnutí nejvýznamnějších poznatků na konci práce – což je jedním z jednoznačných argumentů pro udělení titulu Ph.D. za jménem.

Monika Bambousková je autorkou/spoluautorkou deseti vědeckých publikací v kvalitních biomedicínských časopisech/knize, vyzdvihnout je třeba zvláště její prvoautorskou práci publikovanou ve velice kvalitním časopise *Molecular and Cellular Biology*. Z celkového výčtu je sedm publikací (šest spoluautorských - z nich

jeden přehledný článek - a jedna prvoautorská) součástí dizertační práce. Školitelův rozbor jasně ukazuje, že nejen v práci prvoautorské, ale i v všech ostatních publikacích je experimentální podíl M.B. dostatečný (a to spolu s kvalitou příslušných časopisů) abych celý spis mohl hodnotit vysoce kladně.

K práci bych měl jen následující zvědavé dotazy:

1. *Jako experimentální buněčný model ve své práci využíváte myši žírné buňky diferencované z buněk kostní dřene. Zajímalo by mne, zda se tyto buňky v něčem neliší od přirozených tkáňových žírných buněk, pokud by tomu tak bylo, mohlo by to omezovat univerzálnost získaných dat a jejich interpretaci pro fyziologické buněčné populace? Je vůbec možné získat a kultivovat dostatečné množství tkáňových žírných buněk pro biochemické a molekulárně-biologické analýzy? Dále by mne zajímalo, jak je vámi diferencovaná buněčná populace využita k experimentům fenotypově uniformní?*
2. *Impresivní je koncepce high-throughput degranulačního eseje, kde jste vyvinuli originální metodiku a otestovali 144 kandidátních genů a to každý třemi různými shRNA cílicemi na konkrétní gen! Zajímalo by mne, jestli se domníváte, že jste svým systémovým přístupem a kvalifikovaným výběrem pokryli všechny potenciální regulátory signalizace prostřednictvím FcεRI. Zajímalo by mne trochu více, než je uvedeno v metodice na téma výběru kandidátních genů (a vyřazování, pokud k němu docházelo, těch irelevantních). Kdybych např. výběr dělal já, asi bych např. do eseje nevybral tight-junction protein 1, jeden z vámi nalezených negativních regulátorů!*
3. *Galektin-3 má celou řadu extracelulárních i intracelulárních funkcí. Osobně jsem po nahlédnutí do literatury poněkud zmaten tím, jaký je vztah mezi jeho strukturou, postranlačními modifikacemi a buněčnou lokalizací. Mohla byste mi v tomto pomoci? Myslíte si, že ve vašem případě signalizaci FcεRI ovlivňuje spíše extracelulární forma galektinu-3 nebo formy intracelulární? U některých jiných receptorů cílených prostřednictvím galektinu-3 k degradaci (např. EGFR) tato molekula interaguje s důležitým kofaktorem ESCRT komplexu endolysosomálního systému Alix (doi: 10.1042/BJ20141156, doi: 10.1038/jid.2012.211). Nemohl by podobný mechanismus vysvětlit i vámi pozorované efekty na FcεRI.*

Na závěr bych chtěl konstatovat, že předložená dizertační práce je vysoce kvalitní a prokazuje nejen autorčinu vědeckou erudici, ale i schopnost srozumitelným způsobem formulovat složitá vědecká fakta a hypotézy. Dizertační práce **Molecular mechanisms of regulation of FcεRI signaling in mast cells** splňuje požadavky kladené na kvalifikační práce doktorského studia a jednoznačně ji doporučuji k obhajobě.

prof. RNDr. Jan Černý, Ph.D.