

Praze 15.9.2008

Oponentský posudek na disertační práci

Mgr. Martiny Váškové

Využití genomických dat k nalezení a detailní analýze klíčových molekul u dětské akutní leukémie

Disertační práce Martiny Váškové je strukturována jako komentář k vloženým publikacím. Je rozdělena do tří částí dle jednotlivých publikací, přičemž každá část obsahuje samostatný úvod, cíle, metody a výsledky s diskusí. Jedná se o poněkud méně obvykle využívaný formát bez obecné předmluvy, myslím však, že není důvod jej nepřijmout jako možný a obhajitelný.

Hlavním rysem práce je intimní propojení bioinformatického přístupu těžcího z neustále se hromadících dat uložených ve veřejných databázích s následnou pečlivou biologickou evaluací na modelu lidských leukemií a obecně diferenciací buněk krevní řady. Myslím si, že se jedná se o jeden z prvních ucelených souborů prací vzniklých tímto přístupem v naší zemi.

Konkrétně se autorka zabývala odhalením markerů různých subtypů dětské akutní lymfoblastické leukemie s použitím příslušných expresních profilů. Zde Martina Vášková pionýrsky zavedla způsob vyhodnocování expresních dat, jejich evaluace, byla donucena vybrat vhodné kandidáty s povrchovou expresí testovatelné pomocí průtokové cytometrie, navíc se poprat s limitací vhodných testovacích protilátek. Důležitou součástí všech prací je pečlivá korelace získaných dat s molekulárním vzorem konkrétního leukemického subtypu, včetně klinické korelace. Často byla získána data, která nejsou zcela v souladu s tím co již bylo publikováno. Vše autorka pečlivě diskutuje a hledá možná vysvětlení. Důležitým výsledkem je nález nových kandidátů do diagnostického panelu rutinně vyšetřovaných molekul a to molekul CD44 a CD27. Těmto molekulám se autorka věnuje ve 2. části své práce, kde se jí je daří využít pro jemnou fenotypizaci diferenciací B-buněčné řady. Třetí práce část je věnována GPI-vázané molekule CD66c ve vzorcích kostní dřeně dětí s ALL. Bylo zjištěno, že sledování exprese této molekuly nemá bohužel prognostický význam, byla však získána data upřesňující literární data na toto téma.

Celkově je třeba ocenit pečlivost, s jakou jsou experimenty prováděny vyhodnocovány a korelovány. Práce je zpracována velice dobře, nemám formálních připomínek. Využití metodiky jsou zcela v souladu s cíly a zaměřením práce.

Měl bych několik zvědavých dotazů:

- 1. Při vyhodnocování expresních databází jste jistě získali velké množství korelačních dat o jiných molekulách než jen těch, které jsou využitelné pro průtokovou cytometrii. Plánujete jejich „vytěžení“ v nějaké další práci? Byly objeveny nějaké významné asociace např. u cytoskeletálních molekul, nebo transkripčních faktorů?**
- 2. Jaké je vaše vysvětlení aberantní exprese CD66c v leukemických buňkách pacientů s ALL.**
- 3. CD44 se vyskytuje v několika isoformách – které z nich byly pokryty vaším výzkumem. Není možné, že by některá konkrétní isoforma měla díky tkáňové specifik alternativního splicingu ještě větší korelační a prognostický význam?**

Jak již bylo zmíněno, předložená disertační práce sestává ze tří článků, publikovaných v časopisech se solidním impaktovým faktorem, které ve všech případech prošly pečlivým recenzním řízením a jsou dostatečným předpokladem pro udělení titulu PhD. Na dvou z nich je Martina Vášková prvním autorem (jedna z nich je publikace ve špičkovém časopise *Leukemia* s IF 6,146), což je jasnou indikací kvality její práce a míry jejího experimentálního snažení. Předložená disertační práce byla vypracována v renomované laboratoři, která se dlouhodobě zabývá biologií fenotypizací a obecně biologií krevních nádorových buněk a i díky tomu se v relativně krátké době autorce podařilo realizovat publikační výstup v časopisech dobré kvality. Autorka zde měla přístup ke zcela unikátnímu biologickému materiálu, který myslím velice dobře zhodnotila. Dotazy, které kladu jsou vedeny mou zvědavostí, v žádném případě nesvědčí o nekvalitě práce, kterou doporučuji ke kladnému hodnocení Oborovou radou doktorského studia imunologie při následné obhajobě.

Osobně přeji autorce úspěšné a spokojené pokračování v dobře zahájené vědecké kariéře.

Doc. RNDr. Jan Černý, PhD.

Katedra buněčné biologie

PřF UK v Praze