



UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

ÚSTAV PATOLOGICKÉ FYZIOLOGIE
CENTRUM EXPERIMENTÁLNÍ HEMATOLOGIE

12853 PRAHA 2, U Nemocnice 5

Přednosta: Prof. MUDr. Emanuel Nečas, DrSc.

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Lenky Doubravské s názvem „Wnt signaling inside out“.

Vážení p. předsedo a členové komise, je mojí milou povinností posoudit práci Mgr. Lenky Doubravské, jež absolvovala PhD studium v oboru Imunologie na PŘFUK. Práce uvádí a shrnuje 7 vědeckých článků, ve kterých se účastnila jako první autorka (2x) a jako spoluautorka. Jedná se o články v recenzovaných zahraničních časopisech. Součástí disertační práce je 146 anglicky psaných stránek textu a obrázků v podobě úvodu (34 stránek), relativně strohých komentářů k výsledkům a diskuse vždy předcházející originálním článkům (91) a následně 1 strana závěrů. Následují reference. Práce odpovídá formálnímu zadání pro PhD práci. Články, jež tvoří integrální součást textu byly hodnoceny oponentním řízením v příslušných časopisech.

Formální komentáře: text úvodu práce je nepřilíživě zajímavě podaný, obsahuje řadu zkratk, které nejsou vždy využity, takže nejsou mnohde nezbytné. Angličtina je limitující faktor, ale autorka tím naopak projevuje snahu jazyk používat, což lze také ocenit. V textu českého překladu se objevují ojediněle i hovorové výrazy.

Faktické komentáře: vzhledem k tomu, že není jasně vymezena účast kandidátky ve spoluautorských publikacích, vztahují se pouze k prvoautorským publikacím: k článku Doubravská et al. v časopise Apoptosis 2008 a k článku Doubravská et al. v časopise Cellular Signalling 2011.

1) jeden z prvních závěrů práce vychází z předpokladu (experimentálně podpořeného v buněčných liniích), že pre-B lymfoblasty (a nikoli myeloblasty či lymfocyty) vykazují vztah mezi expresí Wnt1 (a Wnt3a) a TRAIL-závislou apoptosou. Vzhledem k tomu, že transfektanty, jež byly využity v uvedených buněčných liniích byly neregulované (kromě svého promotoru) a pravděpodobně se nejednalo o individuální klony (?), je obtížné představit si zcela dostatečně, zda při různých hladinách transgenních proteinů nedochází k odlišnému (na koncentraci závislému) zapojení proteinu Wnt1 v apoptose závislé na molekule TRAIL. Také mi není zcela jasné, zda neexistují rozdíly v expresi Wnt1 na buněčných liniích. Prosím tímto o vysvětlení, zda lze ve stávajících datech posoudit navýšení transgenní exprese proteinu a eventuálně navrhnout experiment, pomocí něhož by šlo vysledovat závislost exprese transgenu v TRAILem mediované apoptose. A dále by mě zajímalo, zda genetické cíle EPAS1 a MYB byly také měřeny na proteinové úrovni.

2) v případě podání rekombinantních proteinů LWnt1 a LWnt3a byly genetické cíle signalizace aktivovány, ale nedošlo k potenciaci TRAILem mediované apoptosy. Autoři usuzují na eventuální souvislost s jinými signálními dráhami, např. NFkB či MEK1/ERK1/2 a zároveň na konci článku zvažují, zda nehraje roli bazální úroveň aktivace těchto signálních drah. Zajímalo by mě, jaká je bazální úroveň signalizace Wnt1 (Wnt3a). A dále by mě zajímalo, zda byla provedena křivka závislosti LWnt1 a LWnt3a a TRAILem mediované apoptosy.

3) prosím o popis předpokládaného efektu substituce v proteinech Wnt1 a Wnt3a :

ASP/GLN a CYS/ALA: došlo ke kompletní ztrátě či nelze vyloučit stejnou, podobnou či jinou modifikaci na nově vytvořené aminokyselině ve smyslu glykosylace a palmitoylace?

Vzhledem k jasné kvalitě článků, vědeckého týmu a školitele nepochybuji o tom, že Mgr. Lenka Doubravská je *oprávněna získat titul PhD* a tento návrh na základě pročtení její PhD práce jednoznačně podporuji.

Doc. MUDr. Tomáš Stopka PhD.

11.7.2011 v Praze

1.lékařská fakulta UK, U Nemocnice 5, 12853, Praha 2, tstopka@lf1.cuni.cz