

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci
Mgr. Víta Pospíšila
“Role of the oncogenic microRNAs miR-17-92 and miR-155 in the regulation of hematopoietic differentiation and leukemogenesis”

Předložená doktorská práce má rozsah 117 stran, je klasicky členěna na úvod, cíle, materiál a metody, výsledky, diskusi, závěr, přílohy a souhrn použité literatury. Práce je psána v angličtině. Obsahově se práce opírá o dvě publikace otištěné v roce 2011 ve velmi renomovaných vědeckých časopisech. U jedné publikace, která tvoří i stěžejní část předložené práce, je Mgr. Vít Pospíšil veden jako první autor, u druhé je veden jako jeden z členů širšího řešitelského týmu. Oponent má v tomto případě výrazně zjednodušenou pozici, protože uváděná data i jejich interpretace a způsob jejich prezentace bezpochyby prošly tvrdou a náročnou oponenturou v průběhu recenzního řízení v edičních radách obou časopisů. Též literární úvod a diskuse ukazují, že autor se v tématu pohybuje s erudicí a je schopen téma velmi dobře vysvětlit a diskutovat.

Práce je napsána velmi čtivě. Abych však pouze nechválil. Myslím, že první kapitoly úvodu jsou psány na zbytečně základní úrovni znalostí a téměř si dovolím říci, že by tam kapitoly 1.1. až řekněme 1.3 nemusely být a mohly být nahrazeny pouze několika úvodními větami. Práce též obsahuje dlouhé doslovné pasáže z publikací, o které se opírá, včetně shodných nebo podobných obrázků a legend. V tom nevidím problém z faktického hlediska. U velkých obrázků, kde často legenda přechází na jinou stranu, než leží obrázek, to však činí práci trochu nepřehlednou a čtení příslušného odborného článku je tak často pohodlnější než čtení práce samé. Při psaní takto rozsáhlé práce, navíc v cizím jazyce, se málokdo vyvaruje chyb a překlepů. V práci Mgr. Víta Pospíšila jsem jich našel poměrně malý počet. Nepokládám za nutné se jimi zde zabývat ani již dále komentovat formální stránku práce.

Z dalších dotazů a komentářů k práci a autorovi vybírám:

Na straně 10 se autor zmiňuje, že geny nemající TATA box také existují. Myslím, že toto tvrzení by se dalo vyjádřit spíše obráceně tak, že geny obsahující TATA box také existují. Mohl by autor uvést nějaké poslední údaje / představy o významu TATA boxu pro regulaci genů kódujících bílkoviny?

Na straně 35 autor uvádí, že miR-17-92 stimuluje angiogenezi v nádoru, zároveň ve stejné větě uvádí, že jedním z cílů miR-17-92 je mRNA kódující HIF1alfa. HIF1alfa je, pokud vím, jedním z faktorů stimulujících angiogenezi též. Může autor tyto údaje a jejich případnou souvislost nějak okomentovat?

Jaká byla obvyklá účinnost transfekce buněk PUER a blastů izolovaných z pacientů metodou popsanou na straně 45. Jaké byly obvyklé poměry středně a silně GFP pozitivních buněk?

Na straně 48 je popsána metoda chromatinové imunoprecipitace. Z profesních důvodů mne zajímá jak byla opravdu prováděna, jaké byly použité pufrы, jak bylo zajištěno, že sonikovaná jádra v lázni se suchým ledem/etanolem nezmrzla atd. Myslím, že pro tzv. plnou verzi doktorské práce není vhodné nutit čtenáře ke, dnes stále obvyklejší, strastiplné cestě po různých literárních odkazech, která navíc často a ani zde nevede k úspěchu. Dovoluji si tedy autora požádat o detailní vysvětlení celé metody a doplnění jednotlivých roztoků.

Práce je založena na použití buněk PUER. Jaký je rozdíl v hladině exprese PU.1 u buněk bez a v přítomnosti tamoxifenu v obvyklé koncentraci, kterou autor používal? Bylo možné detekovat PU.1 mRNA případně protein i v buňkách kultivovaných v nepřítomnosti tamoxifenu?

Výsledek na obrázku 13 ukazuje značný pokles v množství Egr2 vázaného do oblasti promotoru miR-17-92 v shEgr2 buňkách a odpovídající zvýšení trimetylovaného H3K4 ve stejné oblasti. Pokles vázaného Egr2 se jeví podstatně výraznější než by odpovídalo ukázanému celkovému úbytku Egr2 v shEgr2 PUER buňkách na obr.12. Může tento výsledek autor nějak komentovat? Bylo by též možné pro srovnání shlédnout výsledek měření hladiny H3K9ac v experimentech předvedených na obr.13?

Na straně 69 autor uvádí, že luciferázová aktivita byla měřena v PUER buňkách 96 hodin po stimulaci tamoxifenem. Nejedná se v tomto případě o „překlep“?

Předložená disertační práce mne zaujala a rád jsem si ji přečetl. Je tedy závěrem mojí velmi milou povinností říci, že podle mého soudu disertační práce a publikace, o které se opírá, splňují jako celek veškeré odborné i formální požadavky kladené na doktorskou disertační práci. Doporučuji aby práce byla přijata k obhajobě a stala se podkladem pro udělení titulu Ph.D.

21. prosince, 2011 v Praze


RNDr. Martin Pospíšek, Ph.D.