

**Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Radoslava Janoštiaka  
„The role of protein p130Cas in integrin signaling“**

Dizertační práce Mgr. Janoštiaka je založena na dvou prvoautorských a jedné spoluautorské publikaci - všechny články již byly zveřejněny. Z výše uvedeného výčtu je zřejmé, že autor disertace je schopen efektivní a kvalitní laboratorní práce a vlastní obhajoba disertace je tak do jisté míry rekapitulační, formální a doufejme i slavnostní záležitostí. Přesto se pokusím předkládanou práci v několika následujících odstavcích zhodnotit.

Dizertační práce je předkládána v „plné“ verzi obsahující úvod, metodickou část, výsledky a diskusi. Text je psán dobrou a srozumitelnou angličtinou s minimálním počtem chyb a překlepů, po formální stránce mám jen několik drobných výhrad (viz níže). Literární úvod má dostatečný rozsah a napomáhá k orientaci ve výsledcích uvedených v publikacích. První prvoautorský článek v časopise *Molecular Biology of the Cell* srovnává biochemické vlastnosti proteinu Crk-associated substrate (Cas) dvou jeho forem mutovaných v doméně SH3. Autoři publikace uvádí několik nových poznatků o vlivu fosforylace tyrosinu 12 na interakci s proteiny účastnicími se fokálních adhezí a s nimi spojené signalizace, a dále na buněčnou lokalizaci proteinu Cas, pohyblivost a invazivitu buněk. Druhý prvoautorský článek v časopise *Cellular and Molecular Life Sciences* popisuje objev přímé interakce proteinu Cas s vinkulinem. Tato interakce je zprostředkována doménou SH3 proteinu Cas a oblastí vinkulinu bohatou na proliny. V návaznosti na předchozí publikaci autoři zjistili, že vazba mezi oběma proteiny je omezená, je-li doména SH3 fosforylovaná právě na tyrosinu 12. Dle uvedených výsledků nově popsaná interakce mezi Cas a vinkulinem ovlivňuje nejen lokalizaci obou proteinů v rámci buňky, ale i dynamiku a velikost adhezivních spojení a některé další buněčné vlastnosti jako je odolnost vůči deformacím nebo odpověď na fyzikální podněty. Poslední článek, na kterém se autor podílel, byl publikován v časopise *Folia Biologica*. Práce je zaměřena na zobrazení morfologie a dynamiky fokálních adhezí při růstu buňky v trojrozměrném prostředí.

**K vlastnímu vědeckému obsahu disertace mám tyto dotazy a komentáře:**

- 1) Většina experimentů ukazujících vazby a lokalizace proteinů je založena na využití tzv. stabilních linií, které patrně nadprodukují sledované varianty proteinů (Cas, vinkulin). Byla někdy srovnána úroveň produkce těchto exogenních proteinů (pomocí Western blottingu, kvantitativní RT-PCR) s úrovní exprese endogenních proteinů?
- 2) Autoři analyzovali přítomnost fosforylace na tyrosinu 12 u několika (=5) nádorových linií a z výsledku odvozují, že tato modifikace souvisí se zvýšenou invazivitou těchto buněk. Byl analyzován větší počet nádorových buněčných linií, potvrzující výše uvedený závěr?

- 3) Fosforylace tyrosinu 12 proteinu Cas mění chování této bílkoviny ve vztahu k fokálním adhezím a současně zvyšuje invazivitu buněk. Zároveň tato fosforylace brání interakci Cas s vinkulinem, což opět vede k částečné delokalizaci Cas z adhezivních spojů. Dalo by se tedy předpokládat, že inaktivace vinkulinu povede k vyšší pohyblivosti a invazivně buněk. Jsou známé mutace vinkulinu v některých typech nádorů a případně souvisí tyto mutace s invazivitou a schopností buněk metastazovat?
- 4) Jaký je mechanismus „přesunu“ mutantní formy CAS Y12E z fokálních adhezí do podozomů?

**Komentář k formálnímu zpracování disertace:**

- 1) Autor si patrně neujasněl, jakým způsobem se ve vědeckém textu používají zkratky. Ty se v textu objevují značně nahodile bez předem daných pravidel. Autor disertace nerespektuje zvyklost, že při prvním použití se daný termín uvede v plné podobě s příslušnou zkratkou v závorce.
- 2) Řada informací (a formulací) se v různých kapitolách literárního přehledu opakuje. Text tak působí „rozbitě“ a ztrácí srozumitelnost (zkráceně: chybí postupné rozvíjení tématu).
- 3) Výsledky třetí publikace nejsou součástí souhrnu, autor se pouze omezil na sdělení, že participoval na uvedeném výzkumu.
- 4) Obrázky mají spíše „ilustrativní“ než informativní charakter – popisy obrázků jsou příliš stručné, čtenář si musí sám „domýšlet“ vlastní význam jednotlivých ilustrací. Uvedení kompletní citace v legendě obrázku je rovněž nestandardní (a zabírá místo pro vlastní popis).
- 5) Názvy obrázků ve výsledkové části jsou velmi obecné – název by měl obsahovat shrnutí hlavního výsledku znázorněného daným obrázkem. „Složené“ číslování obrázků v této části je nepřehledné a jsou v něm chyby.

Závěrem bych chtěl potvrdit, že z předkládané disertace je zřejmé, že student jasně prokázal tvůrčí schopnosti a práce splňuje požadavky kladené na disertační práce v daném oboru. Celkově hodnotím disertační práci Radoslava Janoštiaka jako velmi dobrou a doporučuji ji k obhajobě. Autorovi pak přeji mnoho úspěchů pracovních i životních.



V Praze dne 30.1. 2014

RNDr. Vladimír Kořínek, CSc.  
Oddělení buněčné a vývojové biologie  
Ústav molekulární genetiky AV ČR, v.v.i.