

Školitelský posudek diplomové práce Gity Novákové

„Characterization of a role of senescence in the induction and regulation of cancer cell death“

Gita Nováková do práce v naší laboratoři zapojila již v posledním ročníku svého bakalářského studia. Téma její diplomové práce – vliv senescence na aktivaci a průběh apoptotické buněčné smrti v nádorových buňkách je jak v naší laboratoři, tak i celkově ve výzkumu buněčné smrti doposud poměrně nové a publikačně málo pokryté. Při jeho řešení jsme na některých problematikách týkajících se senescentních buněk a analýze získaných výsledků úzce spolupracovali se skupinou Dr. Zdeňka Hodného z Laboratoře genomové integrity ÚMG AV ČR. Počátečními cíli její diplomové práce byly zejména optimalizace přípravy vybraných senescentních nádorových buněk a to jak využitím replikačního stresu indukovaného bromodeoxyuridinem, tak i doxycyclinem indukibilní koexpresí inhibitorů buněčného cyklu p21/Waf1/Cip1 a p16/INK4a či kombinací jejich exprese s nízkou, minimální stres indukující koncentrací BrdU. U těchto senescentních buněk pak v porovnání s proliferujícími nádorovými buňkami analyzovala jejich odpovědi na indukci buněčné vybranými apoptogeny a charakterizovala exprese apoptózu regulujících proteinů či vliv potlačení exprese jednoho z nich na průběh apoptózy.

Po experimentální stránce se Gita seznámila s a zvládla řadu molekulárně a buněčně biologických a biochemických metod - přípravu expresních vektorů a rekombinantních lentivirů, průtokovou cytometrii a fluorescenční mikroskopii, Western blotting a mnohé další. Vedle experimentální práce si také průběžně rozšiřovala své teoretické vědomosti a porovnávala své výsledky s publikovanými daty. Ke svým experimentům vždy přistupovala velmi zodpovědně a byla a je pečlivá jak v jejich realizaci, tak i v jejich interpretaci. Nespoléhalo pouze na pasivní provádění experimentů, ale také aktivně na základě získaných výsledků navrhovala jejich modifikace či korekce.

Výsledky její diplomové práce poodhalili komplexitu i vzájemnou propojenost změn v expresích apoptózu regulujících proteinů odrážejících se v citlivosti senescentních nádorových buněk k indukci apoptózy. Její výsledky poukázaly například na rozdílnou regulaci apoptotické signalizace z aktivovaných receptorů pro ligandy smrti TRAIL a FasL u senescentních nádorových buněk, spřaženou regulaci exprese pro- a anti-apoptotických proteinů z rodiny Bcl-2 či na významný rozdíl v citlivosti k indukci apoptózy mezi senescentními buňkami získanými pomocí indukce replikativního stresu a nadprodukcí inhibitorů buněčného cyklu. Tyto její výsledky ale jen pootevřely dveře do zajímavého a teoreticky i potenciálně prakticky významného a doposud málo prozkoumaného pole indukce

buněčné smrti v senescentích normálních i nádorových buňkách a vytvořily odrazový můstek pro pokračování a rozšíření výzkumu této doposud opomíjené problematiky.

V souhrnu hodnotím přístup Gity Novákové jak k řešení své diplomové práce, tak i k zpracování a interpretaci výsledků a jejich zapracování do předkládané a obhajované diplomové práce vysoce pozitivně a doporučuji její práci k úspěšné obhajobě a k co nejvyššímu následnému ohodnocení.

Praha, 28.5.2014

RNDr. Ladislav Anděra, CSc.