

## Oponentský posudek disertační práce RNDr. Pavla Lebdušky

### *"Topografie signalizačních molekul na plazmatické membráně při aktivaci žírných buněk"*

Předložená práce Mgr. Lebdušky je ve své úvodní části asi nejpovrchněji vyvedenou a ve svém celku asi nejpodivněji konstruovanou disertací, jakou jsem kdy dostal k oponentování.

Doktorand je přitom spoluautorem celkem pěti publikací vyšlých v kvalitních a velmi přísně recenzovaných odborných časopisech, což skýtá solidní záruku ověřené kvality a validity předložených výsledků. Je rovněž prvním autorem na poslední z těchto publikací, která je metodicky zaměřená na topografii membránových proteinů. Protože i sám uvádí, že používal především metody elektronové mikroskopie, lze předpokládat, že především v této práci byl jeho přínos a podíl na získaných výsledcích největší. Vzhledem k potenciálnímu metodickému přínosu, by již sama tato publikace uchazeče mohla postačovat k získání vědecké hodnosti, pokud měl hlavní a zásadní podíl na jejím vzniku. Ovšem, v disertaci je autorem vyvinutá metoda popsána naprosto minimálně a pouze v příslušné části vyšlé publikace, a je rovněž zcela minimalisticky a povšechně diskutována.

Z předložené disertace lze pouze v diskusi a s jistými obtížemi vyčíst, které části předložených publikací jsou výsledkem práce a myšlenkového přínosu doktoranda a co bylo dílem a nápadem ostatních spoluautorů daných publikací. Jednoznačně jsem postrádal jasné úvodní vyjádření autora k jeho podílu na publikovaných výsledcích. Tento nedostatek obzvláště vyniká v kontextu jeho paušálního poděkování kolegům a spoluautorům publikací. To je formulováno způsobem, který si může dovolit pouze člověk, který byl oním „tahounem“, onou hlavní vědeckou osobností, jež dané publikace vymyslela, experimenty odpracovala, výsledky sepsala, opublikovala a které kolegové přitom jenom sekundovali. V tomto ohledu se oponenta nemohou nezmocnit jisté pochybnosti, protože forma a provedení disertace (především pak její úvodní části) postrádají exaktnost a důslednost a naopak vykazují znaky jisté iracionality a povrchnosti.

Kupříkladu, klíčem k pochopení a k diskusi získaných výsledků je mimo jiné rozbor stavu poznání o struktuře plazmatické membrány, nikoliv jenom jejich lipidových raftů. Stejně tak v disertaci chybí alespoň základní teoretický úvod k použitým specifickým metodám elektronové mikroskopie a rozbor jejich stávajícího využití při řešení problémů obdobných těm řešeným v disertaci, včetně vymezení technických limitů a úskalí použitých postupů. Mezi cíli disertace jsou mimo jiné uvedeny:

- (i) vývoj metod izolace listů plazmatické membrány
- (ii) charakterizace topografického vztahu adaptorového proteinu NTAL k proteinům LAT a k receptoru FcεRI a Thy-1
- (iii) objasnění, zda nadprodukce NTAL nevede ke tvorbě atypických struktur v plazmatické membráně.
- (iv) Charakterizace povahy domén glykoproteinu Thy-1.

Přitom v Úvodu zcela chybí texty o stávajícím stavu poznání o strukturách, funkci a lokalizaci proteinů NTAL, LAT, Thy-1 a FcεRI, stejně jako tam chybí aspoň úvod do problematiky homeostáze vápníku a jeho signalační roli, jež je náplní jedné z publikací obsažených v disertaci. Chybí i rozbor literatury k metodám izolace plazmatické membrány a k postupům charakterizace a o povaze případných jejich atypických struktur.

Autor disertace přitom neváhal vynaložit značné úsilí na velmi nestandardní dvojjazyčné provedení disertace v češtině a v angličtině současně. To je finálnímu výsledku zcela nepřiměřené, protože jakmile se čtenář pozorněji ponoří do předložených textů doprovázejících přiložené publikace, ihned narazí na řadu formálních i věcných chyb. Ty pak jednoznačně pramení z určité povrchnosti zpracování disertace a ukazují, že doktorand příliš nekomunikoval se svým školitelem a neradil se s ním o výsledné formě předkládané práce. Je přitom jisté, že mnohem více by kvalitě disertace prospělo jednojazyčné provedení. To by snad autorovi ponechalo sílu a prostor pro vypracování disertace s mnohem větší péčí, pozorností a bez zcela zbytečných chyb a nedostatků, tedy ve kvalitě obvyklé a očekávané u disertací pocházejících z renomované laboratoře Dr. P. Drábera.

Jsem přesvědčen, že podmínkou pro udělení vědecké hodnosti je nejenom splnění kritéria minimálního potřebného počtu publikací, na jejichž vzniku se uchazeč podílel svou prací na příslušných experimentech. Tomu uchazeč jistě beze zbytku vyhověl. Dle mého názoru je ale rovněž důležité, aby disertace dostala i základním formálním náležitostem po stránce preciznosti a úplnosti. Stejně tak musí uchazeč o vědeckou hodnost prokázat, že krom schopnosti technicky správně provádět potřebné experimenty, má také schopnost formulovat hypotézy, navrhnout postupy k jejich ověření a správně interpretovat získané výsledky. Nakonec pak musí být uchazeč schopen o svých výsledcích také vydat exaktní a rigorózní písemné svědectví, tak aby jím získané poznání opravdu posloužilo vědecké obci. V tomto smyslu mne, žel, předložená disertace o vědecké kvalifikaci RNDr. Lebdušky příliš nepřesvědčila. Práce obsahuje řadu chyb a nepřesností, jejichž typové příklady uvádím v seznamu přiloženém k tomuto posudku. Ty nesvědčí o exaktnosti a rigoróznosti v přístupu doktoranda ke zpracování disertace. Doporučuji proto komisi Oborové rady, aby disertaci RNDr. P. Lebdušky vrátila uchazeči k dopracování a k odstranění formálních a věcných nedostatků podle připomínek oponentů a ve spolupráci se školitelem. Podrobné vymezení osobního podílu doktoranda na jednotlivých získaných výsledcích pak považuji za významnou podmínku pro seriózní posouzení a veřejnou obhajobu této doktorské disertační práce.

V Praze dne 31.12.2007

Ing. Peter Šebo, CSc.  
Oponent

**Příloha 1: Vybrané typové příklady formálních nedostatků, nepřesností a chyb v předložené práci v pořadí jejich výskytu:**

- 1) Obsah – přesnější je: *Seznam použitých zkratk a vymezení použitých pojmů*
- 2) Zkratky – přesnější je: DIGEM pro *Detergent-Insoluble Glycosphingolipid-Enriched Membranes*
- 3) Pojmy:
  - a. Není vůbec zřejmé, proč byly podrobněji a poněkud nepřesně vymezeny pouze a právě dva vybrané pojmy: „kolokalizace“ a „neadherentní buňky“...a
  - b. Navrhuji upřesnit: „Kolokalizací je míněn systematicky pozorovaný nenáhodný výskyt jedné molekulární entity v oblasti o daném poloměru kolem jiné molekulární entity a s udanou mírou pravděpodobnosti, že se nejedná o náhodný jev.“
  - c. Adherentní buňky nemusejí nutně přisedat pouze ke dnu kultivačních nádob, ale mohou přisedat (adherovat) také k jejich stěnám... .
- 4) Úvod – I):
  - a. V Úvodu zásadně chybí texty vztahující se k většině vytčených cílů disertace, tedy (i) rozbor literatury o stávajícím stavu poznání struktury, funkce a lokalizace proteinů NTAL, LAT, Thy-1 a FcεRI, (ii) rozbor literatury k metodám izolace plazmatické membrány, (iii) k postupům charakterizace a k povaze případných jejich atypických struktur a (iv) k buněčné homeostáze a signalizaci vápenatých iontů. Struktura Úvodu je nevyvážená a zabývá se výhradně lipidovými rafty a fyziologií a signalizací žírných buněk.
  - b. Celkově působí úvodní kapitola jako poněkud stylově nesourodá směs výborně napsaných, srozumitelných a prakticky bezchybných kusů textu (odněkud převzatých?) proložených úseky, kterým je podstatně hůře rozumět (vlastní tvorba autora?). Ty zahrnují laboratorní žargon a místy obsahují předlouhá a špatně srozumitelná souvětí. V těch na potřebných místech často chybí čárky a jeví známky násilného spojení několika různých samonosných vět a rozdílných myšlenek. Doporučuji proto celý text pečlivě projít a výše zmíněné nešvary důsledně odstranit.
  - c. Pohled na plazmatickou membránu jako na komunikační rozhraní mající informační funkci je zcela neodůvodněně zúžen. Dialog mezi buňkou a okolím zprostředkovává řada různých komponent plazmatické membrány. Lipidové rafty jsou pouhou jednou ze skupin těchto komponent a navíc je jejich sama existence dodnes předmětem sporů ve vědecké komunitě. Plazmatickou membránu, její funkce a strukturu je v této disertaci účelné uvést obšírněji a vyváženěji.
  - d. Str. 10, poznámka pod čarou – „umělecká hodnocení“ typu, že „MIRR se raftů straní“, jsou ve vědeckém textu nemístná. Protein MIRR nemá mozek ani psychiku, aby se něčeho vědomě, či podvědomě mohl stranit. (V raftech se nejspíše nevyskytuje kvůli svým strukturálním a fyzikálně-chemickým charakteristikám.)

- e. Str. 10 – termín „podmembránový cytoskelet“ je možná součástí laboratorního žargonu, ale v češtině bych očekával použití termínu „cytoskelet pod buněčnou membránou“...
  - f. Str. 10 – Co je to „membránový izolát“? Je tímto „pojmem“ míněna specifická izolovaná frakce buněčné membrány?
  - g. Str. 10 – rafty **nepředpokládáme jako reálné struktury plazmatické membrány**, nýbrž rafty **pokládáme za reálné struktury** obsažené v plazmatické membráně, neboť **předpokládáme, že rafty opravdu jsou strukturami, které reálně vznikají v plazmatické membráně.**
  - h. Poslední věta na str. 10, pokračující na str. 11 je obzvláště dlouhá a špatně srozumitelná. Jde o příklad násilného sloučení dvou samonosných vět. Doporučuji zjednodušit podobná souvětí v celém textu.
  - i. Obrázky ilustrující výklad a umožňující jeho lepší pochopení je nejlepší umístit přímo na stránku, kde jsou citovány (viz např. str. 19). Pokud tohle není kvůli rozměru obrázku možné a je třeba umístit obrázek na samostatný list, tento je nutné zařadit hned za stránku obsahující citaci na obrázek, a ne až na konec podkapitoly, aby čtenář nemusel pořád listovat v práci tam a zpět. Doporučuji patřičně přerovnat obrázky v celém textu disertace.
  - j. Obr. 1 - ...“takzvaných“, nikoliv „tak zvaných“...
  - k. Obr. 1 – je velmi zavádějící používat v textu legendy k obrázku označení A), B), C) atd., protože jde o jeden obrázek, nikoliv o soubor obrázků A), B), C) atd. řešením může být řazení do seznamu s pomlčkami, např.: **A - , B – , C - ...**atd.
  - l. str. 13 – co to jsou „vazebné elementy“, raftotvorné molekuly“, ...“komponenty asociované díky preferenci stejného lipidického prostředí“... (komponenty preferující stejné lipidické prostředí, nebo vykazující preferenci pro stejné prostředí)... V jakémže jazyce jsou tyto věty formulované? Češtinu to příliš nepřipomíná... Jaká pak preference...? Jde o fyzikálně-chemické vlastnosti, pro které existují odborné termíny... (lipofilní, amfipatický, hydrofóbní atp...).
  - m. str. 14 - první souvětí – doplnit chybějící čárky, neboli srozumitelnost...
  - n. str. 16 – rozdělit nesrozumitelné dlouhé souvětí začínající slovy: „V myši slezině se...“.
- 5) Diskuse takhle rozsáhlého předloženého souboru výsledků je příliš stručná a je sepsána kompaktním způsobem, který nespécialistovi velmi ztěžuje čtení a pochopení textu. Lze akceptovat, že se diskuse soustředí jenom na vybrané výsledky, jež se vztahují k bezprostřednímu experimentálnímu přínosu a zájmu autora, neboť jednotlivé publikace již zevrubnou diskusi výsledku obsahují. Nicméně, přesto doporučuji aspoň takto úzkou diskusi poněkud rozvést a především lépe strukturovat, aby nabyla na čtivosti a srozumitelnosti.