

Oponentský posudek doktorské disertační práce Mgr. Ivy Polakovičové
„Multiple regulatory roles of the transmembrane adaptor protein NTAL in gene transcription and mast cell physiology“

Předložená disertační práce se týká úlohy adaptorového proteinu NTAL v signalizaci vysoce afinitivního receptoru pro imunoglobulin E u žírných buněk. Disertace vznikala pod vedením Dr. Petra Drábera na Ústavu molekulární genetiky AV ČR v Praze. Disertace má formu souboru prací, který zahrnuje čtyři publikace zveřejněné ve velmi kvalitních časopisech. Mgr. Iva Polakovičová je na zahrnutých publikacích jednou uvedena jako první autor a třikrát jako důležitý spoluautor.

Soubor publikací je uveden přehledným 28 stránkovým úvodem do problematiky v angličtině. Dále v disertaci nechybí také přehled dílčích cílů, které byly v jejím rámci plněny a přehled metod, které disertantka v zahrnutých publikacích využívala. Celá disertace je ukončena diskusí výsledků a závěry opět v angličtině, které odpovídají plnění dílčích cílů.

Při svém posuzování disertace jsem se podrobně věnoval zejména klíčové prvoautorské publikaci autorky letos zveřejněné v časopise Plos One. Autoři potvrdili, že adaptorový protein NTAL je negativním regulátorem aktivace FcεRI receptoru myších žírných buněk. Dále bylo identifikováno několik genů, jejichž exprese byla ovlivňována přítomností NTAL proteinu. Některé z nich jsou zřejmě zapojeny v regulaci antigenem zprostředkované chemotaxe závislé na cholesterolu. Mgr. Polakovičová se na této publikaci podílela nejen provedením většiny experimentů, ale také v rovině koncepční a při finalizaci publikace.

V zahrnutém rukopisu publikace, která byla již v mezidobě přijata ke zveřejnění v MCB, autoři prokázali v systému *in vivo*, že transmembránový adaptorový protein je zapojen v signalizaci PAG žírných buněk jako pozitivní i negativní regulátor, a to v závislosti na signální dráze, která je v té době aktivní. I na této publikaci se disertantka významně podílela, zejména genotypizací myši a žírných buněk, přípravy žírných buněk, verifikace genového knockoutu a přispěla přípravou buněk k experimentům zaměřeným na navrácení cDNA pro adaptorový protein PAG do PAG-deficientních buněk.

Další zahrnutá práce v BMC Biotechnology je metodická a týká se možnosti vyblokování vlivu nežádoucích inhibitorů při provádění PCR analýz přímo z krve bez nutnosti izolace celkové DNA. Mgr. Iva Polakovičová je jejím důležitým spoluautorem, neboť zavedla náročnou metodu k určení mutační frekvence DNA polymerázy, kterou využila pro stanovení mutační frekvence Taq DNA polymerázy v pufrech o různém složení. Publikované výsledky, nepochybně povedou i ke zvýšenému zájmu komerční sféry o tuto tematiku.

Součástí disertační práce je také recentní přehledný článek o molekulárních cílech žírných buněk a možnostech využití těchto poznatků v terapii. Na této publikaci se Mgr. Polakovičová podílela v rovině koncepční i při vlastním sepisování. Rozhodujícím způsobem přispěla zejména kompletací sekce zaměřené na klinické využití poznatků o intracelulárním cílení signalizačních drah žírných buněk a bazofilů.

Vzhledem k tomu, že výsledky prezentované v publikacích již úspěšně prošly recenzním řízením před zveřejněním, lze konstatovat, že podobně jako použitý experimentální přístup jsou dosažené výsledky na vynikající úrovni. Zadané dílčí cíle byly splněny.

Otázky:

- 1) Jaký je v současné době uznávaný model přenosu signálu od imunoreceptoru? Jaký z modelů preferujete a proč?
- 2) Jaké aktin asociované proteiny by mohly být zapojeny ve Ag-mediované chemotaxi?
- 3) Jaké máte vysvětlení pro ovlivnění syntézy cholesterolu absencí NTAL proteinu?

Závěr: Disertační práce Mgr. Ivy Polakovičové má vynikající úroveň. Autorka prokázala schopnost práce s odbornou literaturou, spolupráce ve vědeckém týmu i schopnost sepsat vědeckou publikaci. Některé výsledky obsažené v disertační práci lze přiřadit ke špičkovým poznatkům v oblasti buněčné biologie. Práce má všechny potřebné formální náležitosti a dle mého názoru vyhovuje kritériím, která jsou kladena na doktorskou disertační práci. Práci doporučuji k obhajobě a po jejím úspěšném průběhu doporučuji udělit autorce titul PhD.

V Praze dne 7.10.2014

Ing. Jiří Hašek, CSc.