

Posudek školitele na disertační práci Mgr. Jany Pospíšilové

Proteomika jako nástroj studia molekulárních mechanismů závažných onemocnění

Disertační práce Mgr. Jany Pospíšilové je výsledkem intenzivního šestiletého zapojení kandidátky do výzkumné práce Laboratoře klinické proteomiky a hmotnostní spektrometrie Ústavu patologické fyziologie 1. LF UK. Práce je vystavěna na čtyřech článcích publikovaných v mezinárodních časopisech se souhrnným IF 8.0.

Proteomika je relativně novým přístupem k popisu fyziologických a patologických procesů na molekulární úrovni. Proteomické analýzy si své místo mezi etablovanými metodickými postupy v biomedicíně dosud hledají, podobně jako tomu bylo před pár lety v případě analýz transkriptomických.

Cílem výzkumné práce Jany Pospíšilové bylo aplikovat různé proteomické přístupy k řešení tří odlišných biomedicínských otázek či problémů, získat tak zásadní nové informace přispívající k pochopení těchto studovaných procesů a demonstrovat tak, že proteomika je schopna takové cenné informace poskytovat.

Dostatečně obsažný úvod k disertační práci je, plně v souladu s cílem práce, zaměřen na technické aspekty proteomických analýz, aby i nezasvěcený čtenář měl šanci seznámit se s novými proteomické postupy a ocenit design některých experimentů.

Jádro disertační práce dokumentuje aplikaci různých proteomických přístupů k řešení tří biomedicínských problémů. První část demonstruje aplikaci proteomiky jako „molekulárního vyšetření“ lymfomových buněk s rezistencí na protinádorový cytokin TRAIL. Kandidátka demonstrovala, že pomocí proteomické analýzy lze v rezistentních nádorových buňkách identifikovat sekundární molekulární změny, které mohou být využity jako terapeutické cíle k selektivní likvidaci takových rezistentních buněk. Kandidátka je první autorkou publikace s IF (příloha I) shrnující výsledky této práce.

Druhým projektem bylo proteomické studium molekulárních změn probíhajících v myokradu při srdečním selhání. S využitím potkaního modelu srdečního selhání bylo pomocí moderního přístupu kombinujícího značení iTRAQ s dvourozměrnou separací peptidů a hmotnostní spektrometrií identifikováno a relativně kvantifikováno přes 2000 proteinů včetně více než 60 diferenciatně exprimovaných bílkovin (v porovnání s nepostíženým

myokardem). Práce umožnila navrhnout potenciální markery srdečního selhání a navrhnout dva atraktivní terapeutické cíle. Projekt je shrnut ve dvou publikacích s IF (přílohy II a III) .

Třetí prezentovaný projekt byl zaměřen na využití proteomiky jako nástroje k identifikaci potenciálních sérových markerů ovariálního karcinomu. Analýza patientských a kontrolních sér umožnila identifikaci proteinu RBP4 (statisticky významně snížena koncentrace v sérech pacientek s karcinomem ovária) jako potenciálního diagnostického markeru tohoto onemocnění. Práce je shrnuta v jedné publikaci s IF (příloha IV).

Disertační práce Jany Pospíšilové je uzavřena kritickým rozbohem potenciálních omezení jednotlivých projektů a použitých přístupů i zhodnocením limitů proteomiky jako celku.

Obhajovanou disertační práci, ale především každodenní prací v laboratoři, demonstrovala Jana Pospíšilová schopnost rychle si osvojit rozsáhlý soubor proteomických metod, včetně instrumentálně i koncepčně komplexní hmotnostní spektrometrie. Schopnost samostatné vědecké práce prokázala Jana Pospíšilová především v projektu zaměřeném na rezistentní nádorové buňky. Zcela právem je tak hlavní autorkou článku shrnujícího výsledky. Mgr. Jana Pospíšilová se za dobu svého postgraduálního studia stala zralou samostatnou výzkumnicí s erudicí v proteomických separačních metodách a hmotnostní spektrometrii, ale také s praktickými zkušenostmi s dalšími molekulárně-biologickými a biochemickými metodami. Kromě toho jmenovaná prokázala, že je schopná psát a získávat grantové financování pro svůj výzkum (byla nositelkou grantu GAUK). S klidným svědomím tak mohu doporučit její práci k obhajobě a udělení titulu Ph.D.

V Praze 13/3/2014

doc. RNDr. Jiří Petrák, Ph.D.



Ústav patologické fyziologie 1. LFUK

U Nemocnice 5

120 00 Praha 2