

Oponentský posudek na diplomovou práci

Autor práce: **Bc. Anna-Marie Šůchová**

Název práce: **Vliv signalizace související se zánětem na invazivitu nádorových buněk**

Školitel: **doc. RNDr. Jan Brábek, Ph.D.**

Oponent: **Mgr. Tomáš Brdička, Ph.D.**

Základem předkládané práce jsou výsledky experimentů, které se zabývaly vlivem dráhy IFN β na mezenchymálně-améboidní přechod u melanomových buněčných linií. Jejím hlavním závěrem je, že IFN β indukuje améboidní typ morfologie/migrace melanomových buněk, a že k tomu využívá zejména signalizační komplex ISGF3. Jde o zajímavé a důležité téma. Výsledky práce umožňují lépe pochopit jakým způsobem může prozánětlivé prostředí ovlivnit migraci a invazivitu rakovinných buněk. Znalosti tohoto typu jsou nezbytnou podmínkou pro vývoj léčebných postupů zaměřených na blokování invazivity nádorů.

Po krátkém úvodu a srozumitelné definici cílů práce následuje velmi dobře zpracovaný přehled literatury. Podává základní informace o maligním melanomu. Podrobněji se pak věnuje migraci a invazivitě nádorových buněk, interferonům a signalizaci přes jejich receptory. Tato témata jsou relevantní a až na výjimky jsou prezentována v rozsahu plně postačujícím pro pochopení výsledkové části práce. Text je srozumitelný a použitá literatura správně citována. Citace přehledných i původních prací jsou voleny způsobem zcela odpovídajícím citačním zvyklostem v oboru.

Metodická část je velmi podrobná. Dle mého názoru by plně postačovala k reprodukci výsledků práce nezávislým experimentátorem. Svědčí též o zvládnutí rozsáhlé kolekce metod používaných při analýze invazivity nádorů a signální transdukce.

Data prezentovaná ve výsledkové části jsou velmi dobré kvality a v souladu se závěry práce. Je třeba ocenit, že výsledky na sebe logicky navazují a že tato část práce představuje kompaktní vnitřně konzistentní celek, začínající pozorováním, které definuje zkoumaný problém a pokračující analýzou mechanismu i potenciálního fyziologického významu. Statistické vyhodnocení experimentů je také na zcela dostačující úrovni.

Diskuse je zpracována velmi dobře. Je přiměřeného rozsahu a svědčí o orientaci autorky v řešené problematice. Poměrně hodně prostoru je věnováno shrnutí výsledků studie, nicméně i část která zasazuje výsledky do kontextu publikovaných dat je dostatečně podrobná a informativní.

Po formální stránce je práce téměř bez chyb a překlepů a bez jakýchkoli dalších nedostatků. Velmi oceňuji i řadu zdařilých autorských ilustrací a schémat.

Celkově jde o velmi koherentní a zdařilou práci. Obsahuje řadu originálních výsledků publikační kvality a i po formální stránce je práce kvalitně zpracována. Lze tedy shrnout, že autorka prokázala teoretické i praktické zvládnutí zpracovávané problematiky a splnila cíle práce. **Tato práce dle mého názoru splňuje požadavky na diplomovou práci a doporučuji ji k přijetí.**

Kritické připomínky a dotazy do diskuse:

1. Jedním z hlavních témat práce je analýza améboidní a mezenchymální morfologie buněk. Existují nějaké molekulární markery těchto dvou stavů, které by bylo možné využít při kvantifikaci metodami jako jsou např. Western blotting, průtoková cytometrie nebo qPCR?
2. V analýze signální transdukce a mechanismu, kterým IFN β ovlivňuje morfologii buněk se zaměřujete zejména na komplex ISGF3. Je tento komplex zcela unikátní pro interferonovou signalizaci, nebo jej lze pozorovat i u signálních drah jiných cytokinů?
3. Obr. 7 ukazuje zvýšenou expresi STAT faktorů v buňkách linie HT1080 po expresi konstitutivně aktivního RhoA nebo inhibici kináz rodiny Src. Má to nějaký vliv i na množství fosforylovaných STAT proteinů v těchto buňkách?
4. U obr. 7 je zřejmě chyba v nadpisu v pravé části grafu (dle legendy jde o dasatinib a ne RhoA). Také je poměrně překvapivé že v tomto grafu není zvýšení exprese STAT2 statisticky signifikantní. Jaké jsou pro to důvody?
5. Mohla byste trochu podrobněji objasnit, jak výsledky vašich experimentů analyzujících signální dráhy různých interferonů přispěly k formulování hypotézy, že za specifický vliv IFN β na mezenchymálně-améboidní přechod nádorových buněk je zodpovědný komplex ISGF3?
6. Na Obr. 13 ukazujete, že snížení exprese IRF9 vede ke změně morfologie buněk linie WM3629. Jak si vysvětlujete fakt, že k tomu dochází bez přidání IFN β ? Produkují tyto buňky vlastní interferony?
7. Na obr. 16 ukazujete výrazně změněnou morfologii buněk HT1080 po transdukcii shRNA IRF9_1. Nemůže jít o důsledek kontaminace jinou buněčnou linií (např. pakážovacími buňkami)?
8. V práci mi chybělo vysvětlení proč jsou změny v cirkularitě sféroidů považovány za důkaz zvýšené invazivity buněk a reference, která by to dokládala. Můžete to napravit v rámci této diskuse?
9. Jedna formální drobnost: myslím, že by v českém textu bylo vhodnější používat pro obrázky českou zkratku „obr.“ a ne anglickou „Fig.“