

Oponentský posudek doktorské disertační práce Mgr. Viktora Bugajeva
„Regulatory functions of mast cell activation at the level of the high-affinity receptor for IgE and STIM1“

Předložená disertační práce se týká funkční analýzy komplexu receptoru pro imunoglobulin E a interakční molekuly 1 (STIM1), které jsou důležitými regulátory signalizace 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. Viktor Bugajev je na zahrnutých publikacích dvakrát uveden jako první autor a dvakrát jako důležitý spoluautor. Dle vyjádření spoluautorů k publikacím disertant svou prací podstatně přispěl k získání výsledků všech čtyř zahrnutých publikací.

Soubor publikací je uveden přehledným 22 stránkovým úvodem do problematiky v angličtině. Dále v disertaci nechybí také přehled dílčích cílů, které byly v jejím rámci plněny a přehled metod, které disertant v zahrnutých publikacích využíval. Následuje Celá disertace je ukončena diskusí výsledků a závěry opět v angličtině, které odpovídají plnění dílčích cílů.

V první publikaci ve FEBS Letters, na které se V. Bugajev podílel jak v oblasti koncepční, tak i při sepisování, autoři prokázali, že adaptorové proteiny NTAL a LAT asociují s fosfatázami podléhajícími oxidaci. Práce ukazuje možný význam ROS pro fosforylaci adaptorových proteinů NTAL a LAT.

Klíčovou pro tuto disertaci je druhá zahrnutá práce, na které je V. Bugajev uvedený jako druhý první autor. Byla zveřejněna v J. Immunology. Ve spolupráci v rámci UMG autoři zjistili významné poznatky o úloze proteinu STIM1 při regulaci Ca²⁺ iontů a mikrotubulů u žírných buněk aktivovaných přes vysokoafinitní IgE receptor. Kromě jiného autoři ukázali, že STIM1 aktivace vede k vytváření buněčných výběžků obsahujících mikrotubuly. V. Bugajev k této publikaci významně přispěl zejména přípravou žírných buněk o různé expresi STIM1 receptoru a též i formulací závěrů o úloze Ca²⁺ iontů při tvorbě výběžků aktivovaných buněk.

Dvě další zahrnuté práce jsou metodické a týkají se možnosti vyblokování vlivu nežádoucích inhibitorů při provádění PCR analýz přímo z krve bez nutnosti izolace celkové DNA. Mgr. Bugajev je jejich důležitým spoluautorem, neboť se zapojil nejenom v rovině koncepční, ale i při provádění experimentů. Publikované výsledky, nepochybně povedou i ke zvýšenému zájmu komerční sféry o tuto tematiku.

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.

Drobné připomínky: nemám

Otázky:

- 1) Jaký je v současné době uznávaný model přenosu signálu od imunoreceptoru? Jaký z modelů preferujete a proč?
- 2) V práci v J. Immunology uvádíte, že protein STIM1 je přemístěn do blízkosti plazmatické membrány nezávisle na růstu mikrotubulů. Jaké máte pro toto přemístění? Co může být jeho hybnou silou?
- 3) Co víte o možných mechanismech tvorby buněčných výběžků? Co je předpokladem jejich tvorby?
- 4) Jaký význam mohou mít vaše výsledky popsané v práci v J. Immunology pro navržení nových přístupů v léčbě zánětlivých reakcí a alergii?

Závěr: Disertační práce Mgr. Viktora Bugajeva má vynikající úroveň. Autor prokázal 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 autorovi titul PhD.

V Praze dne 20.5.2013

Ing. Jiří Hašek, CSc.