

Oponentský posudek disertační práce:

Jan Lukáš

Molekulární mechanismy signalizace Wnt v savcích buňkách

V předložené disertační práci se autor zabývá molekulárními mechanismy signalizace v jedné z nejdůležitějších evolučně konzervovaných signálních drah. Signální dráha Wnt se významně uplatňuje v embryogenezi, postnatálně se účastní regeneračních procesů, udržování homeostázy a obnovy kmenových buněk. Její deregulace vyúsťuje v závažné vývojové defekty tkání a orgánů, později v degenerativní postižení a nádorová onemocnění. Práce se zabývá zejména procesy v kanonické Wnt dráze. Cílem práce v první části bylo nalézt nové proteiny modulující aktivitu Wnt signalizace v jádře, v druhé části se autor zabýval úlohou posttranslačních modifikací proteinů Wnt, které předcházejí jejich sekreci a signalizační aktivitě. Téma práce je velmi aktuální, neboť veškeré příspěvky k této problematice mohou mít v budoucnu značný význam, z mého pohledu zejména v souvislosti s postiženými pacienty. Mezi významné výsledky této práce patří nález, charakteristika a působení tří proteinů (CtBP1, HIC1, DAZap2), které v jádře interagují s transkripčními faktory LEF/TCF a ovlivňují transkripční aktivitu cílových Wnt genů závislou na působení komplexu β -katenin/TCF. Neméně významné jsou nálezy úlohy posttranslačních modifikací proteinů Wnt1 a Wnt3 (N-glykosylace, acylace) v souvislosti se sekrecí těchto proteinů na povrch buňky, s jejich šířením v extracelulárním prostředí a signalizační aktivitou.

Předložená disertační práce je zpracována formou komentovaného souboru čtyř publikací. Všechny jsou publikovány v časopisech s velmi hodnotným IF v rozsahu 4,058 – 10,086 a prošly tedy náročným recenzním řízením. V jedné z nich je doktorand prvním autorem (IF – 7,479), v ostatních spoluautorem. Práce obsahuje 77 stran textu včetně obrázků a následuje bohatý seznam referencí (553). Doprovodný komentář tvoří následující kapitoly: seznam zkratk, komentář k nomenklatuře, shrnutí práce, následuje úvod seznamující čtenáře s problematikou Wnt signální dráhy, výsledky, diskuse a komentáře k jednotlivým publikacím a závěry. V rozsáhlém úvodu (51 stran) jsou předloženy bohaté informace o účincích a významu Wnt dráhy zohledňující její evolučně konzervovaný charakter a svědčící o hlubokém ponoření doktoranda do dané problematiky. V průběhu pročítání práce se oponent dozvídá co je cílem práce, přece jen bych však preferovala i v komentovaném podání zařazení kapitolky Cíle práce a jejich jasnou definici. Rovněž zasvěceně je zpracována kapitola Výsledky a diskuse. Navazuje plné znění publikací spolu s dalším doplňkovým materiálem –

např. metody, obrázky a další. Pozitivní je i vymezení podílu doktoranda na jednotlivých publikacích, uvedené v autoreferátu.

Práce má vysokou odbornou úroveň, o čemž svědčí vysoký IF publikací. Kromě obsahové stránky je nutné také vyzdvihnout množství moderních molekulárně biologických metod využitých k řešení stanovených cílů. Práce je psaná v anglickém jazyce s minimem překlepů, po formální stránce nemám žádné připomínky.

Autorovi bych ráda položila několik otázek vycházejících z mého profesního zaměření:

- 1) K aktivaci Wnt signalizace může dojít na různých úrovních. Mohou také wnt ligandy způsobit konstitutivní aktivaci dráhy a přispět tak k rozvoji nádorového bujení (např. vzniku kolorektálního karcinomu) ?
- 2) Až 85% sporadických kolorektálních karcinomů vzniká v důsledku mutace v genu *APC* (zárodečná mutace má za následek familiární adenomatózní polypózu – FAP). Ve Vaší práci byl prokázán represivní efekt CtBP na transkripci Wnt cílových genů zprostředkovanou komplexem β -katenin/TCF. Může tento nález ovlivnit iniciaci karcinogeneze za předpokladu, že gen *APC* je mutován? (Eventuálně v souvislosti s jinými nádory)
- 3) Protein HIC1 tlumí Wnt signalizaci přenosem TCF4 a β -kateninu do subnukleárních struktur. Jaký je osud těchto molekul, co se odehrává v jaderných tělískách?

Závěr: Autor předložil vysoce kvalitní disertační práci, podal důkaz, že je schopen vědecky pracovat, využít k tomu škálu moderních metod, zhodnotit výsledky a konfrontovat je s nejnovějšími poznatky daného oboru. Práce přinesla nové poznatky a výsledky, které přispěly k poznání mechanismů důležité signální Wnt dráhy. Vzhledem k uvedeným skutečnostem mohu konstatovat, že předložená dizertační práce splňuje předpoklady k udělení titulu Ph.D. a doporučuji proto, aby byla přijata jako podklad pro udělení této vědecké hodnosti.

Doc. MUDr. Milada Kohoutová, CSc.

Ústav biologie a lékařské genetiky 1.LF UK a VFN

V Praze 22.3.2013