

## **Posudek na doktorskou dizertační práci Mgr. Jana Lukáše s názvem „Molecular mechanisms of Wnt signalling in mammalian cells“**

Předkládaná práce Mgr. Jana Lukáše se zabývá dvěma aspekty regulace signální dráhy proteinu Wnt. V první části se autor věnuje otázce diferenciální regulace transkripce řízené transkripčními faktory rodiny LEF/TCF. Výchozím bodem k řešení této otázky bylo hledání nových interakčních partnerů transkripčního faktoru TCF4 pomocí kvasinkového dvouhybridního systému. Vybrané interakce byly dále charakterizovány v savčích tkáňových kulturách a byl studován jejich význam pro transkripci cílových genů Wnt signální dráhy. Výsledkem těchto analýz je popis jednoho pozitivního (DAZap2) a dvou negativních (CtBP1, HIC1) modulátorů transkripce závislé na TCF4. V druhé části práce se autor zabývá biochemickou charakterizací proteinu Wnt, konkrétně úlohou jeho posttranslačních modifikací, což je nesmírně důležitá oblast výzkumu Wnt signální dráhy s řadou rozporupných literárních údajů. Hlavním výsledkem této části je popis sekvence modifikací, kdy N-glykosylace předchází acylaci, a dále popis významu jednotlivých modifikací pro biologickou aktivitu proteinu Wnt, kdy glykosylace není pro aktivitu nezbytná, zatímco acylace jsou důležité pro šíření v ECM a pro signalizaci. Vzhledem k tomu, že veškeré předkládané výsledky byly publikovány v kvalitních impaktovaných časopisech, kde prošly nezávislou oponenturou, a jsou vědeckou komunitou citovány, nemám nejmenších pochyb o jejich kvalitě.

Po formální stránce je práce na dobré úrovni, je psána srozumitelnou angličtinou s minimem chyb a stylistických nedostatků (dovolím si snad jen upozornit na častou chybu „can not“ místo „cannot“). Práce obsahuje velmi obsáhlý úvod, který by mohl sloužit jako referenční příručka Wnt signalizace, úctyhodný je i seznam citované literatury, i když mi poněkud unikl systém jejího číslování (čekala bych vzestupnou řadu od 1, nikoliv první citaci pod číslem 9...). Jednotlivé předkládané publikace jsou podrobně komentovány a poskytují další informace o studovaných proteinech a možných mechanismech jejich působení.

K práci mám několik doplňujících otázek:

- 1) Jednou ze vstupních hypotéz bylo, že diferenciální regulace transkripce řízené faktory TCF rodiny může být zajišťována interakcí jednotlivých TCF faktorů s kofaktory unikátními pro daný TCF. CtBP ani DAZap2 však tento předpoklad nespĺňují. Interaguje HIC1 pouze s TCF4? Případně existuje nějaký další faktor, který by byl specifický jen pro některý faktor z TCF rodiny?
- 2) Literatura o posttranslačních modifikacích Wnt proteinů obsahuje řadu protichůdných informací. Je to dáno „nekonzervovaností“ úlohy např. glykosylací u různých organismů/různých Wnt proteinů, nebo existuje jiné vysvětlení?
- 3) Nedávno byla publikována struktura XWnt8 v komplexu s Fz8, ze které je patrná úloha acylace serinu pro vazbu Wnt-Frizzled, a zároveň je zpochybněna funkce (a samotná přítomnost) acylace cysteinu. Jak se tyto nové poznatky srovnají s předloženými výsledky?

**Závěr:** Předložená práce splňuje dle mého názoru požadavky na doktorskou dizertační práci, přináší nové a originální poznatky, které dle citačního ohlasu prezentovaných publikací považuje za důležité i širší vědecká komunita. Práci Mgr. Jana Lukáše proto doporučuji k obhajobě.

V Praze 26.března 2013

Marie Macůrková