

Posudek disertační práce

Mgr. Veronika Vlková: Epigenetické mechanismy v regulaci prezentace antigénu a protinádorová imunita.

Oponent: Ing. Jiří Plachý, CSc.

Předložená disertační práce se opírá o čtyři recentní publikace (2011 – 2013) v relevantních časopisech s vysokým impaktem v rámci daného oboru. Podle WOS, dvě z nich již byly citovány – celkový počet citací je 6, h-index = 2. Vzhledem k tomu, že se jedná o relativně nedávné publikace, nelze zatím jejich citační ohlas a celkově ani publikační aktivitu

Mgr.Vlkové podle těchto obecných kritérií hodnotit. U jedné z těchto prací (*Br.J.Cancer*) je uchazečka uvedena na prvním místě, spolu ještě s jedním autorem. U dalších pak byla součástí řešitelského kolektivu. Mgr.Vlková je pak prvním autorem, z hlediska této disertace stěžejní práce, která je v současnosti v revizi v *International Journal of Cancer*.

Je samozřejmé, že k publikování v těchto vysoce impaktovaných časopisech je třeba zvládnout velký objem experimentální práce s řadou metodických přístupů a navíc přidat nějakou novou myšlenku. Při čtení disertační práce se zdá, že autorka tato kritéria v průběhu svého studia bohatě naplnila.

Samotná disertační práce je velmi dobře a pečlivě zpracována a je také přehledně rozčleněna do jednotlivých kapitol. Úvodní literární přehled tvoří vyváženou součást disertace a podrobně informuje o dvou základních tématech, která se zde navzájem prolínají – protinádorová imunita a epigenetické regulace genomu, s hlavním důrazem na DNA metylaci.

Vlastní práce vychází z tradičního experimentálního modelu myších nádorových buněčných linií. Na tomto pozadí se odvíjí promyšlený postup, definovaný v kapitole 5 (cíle práce), který se snaží o introdukci epigenetických přístupů k analýze modelového systému nádorových buněk s rozdílnou expresí MHC I, který byl s pomocí klasických imunologických přístupů již dosti experimentálně vytěžen.

Po formální stránce nemám k předložené disertaci žádné relevantní připomínky.

Přiložené publikace svým obsahem plně odpovídají deklarovaným cílům disertace a o jejich kvalitě dostatečně svědčí skutečnost, že prošly náročným recenzním řízením v renomovaných časopisech. Několik poznámek a dotazů na autorku budu tedy směřovat k práci, která je v současnosti posuzovaná v *International Journal of Cancer*:

Diskutovaná práce přináší zajímavé poznatky, týkající se možné epigenetické úlohy $IFN\gamma$ při ovlivnění protinádorové imunity, ale vlastní mechanismus jeho účinku zůstává stále do značné míry neobjasněn. Jaké jsou tedy další možné experimenty při detailnějším studiu tohoto modelu? Je vlastní interakce s DNMT případně s příslušnými inhibitory sprostředkovaná STAT proteiny nebo nějakým dalším downstream faktorem? (Bylo např. popsáno, že Stat4 váže IL18r1 promotor po stimulaci IL-12 a přechodně zvyšuje acetylaci histonu H3 a H4...)

Pro analýzu změn acetylace bylo v diskutované práci vybráno reziduum K18 histonu H3, zřejmě na základě citované práce v *American Journal of Pathology*. Pozorovaný souhlasný výsledek v předložené práci je zajímavý, nicméně by bylo dobré ověřit ještě další důležité H3 modifikace pomocí ChIP. Chápu, že tyto experimenty jsou (finančně) poměrně náročné, nicméně, mohla byste specifikovat, zda plánujete nějaké další pokusy v tomto směru ?. (Mohlo by být ve hře více modifikací současně ?).

Závěrem jedna obecná otázka nebo spíše téma pro diskusi. V roce 1980 vzbudil rozruch článek pánů Gorczyňského a Steelea, který dokládal možnost děičnosti imunologické tolerance, která se přenášela na potomstvo přes otce s navozenou tolerancí na určitý antigen. Mohla to být průlomová událost v imunologii a tak se mnoho laboratoří (včetně Milana Haška) snažilo pokusy zopakovat, ovšem bezvýsledně. Záležitost zaváhala nějakým porušením správné laboratorní praxe a skončila neurčitým odkazem na možnou úlohu retrovirů. Když se přeneseme do roku 2014, můžeme se dozvědět v prestižním časopise *Nature Neuroscience*, že potomstvo myši trénovaných na strach před pachem určité látky, se rodí s touto vlastností navozenou u jejich rodičů. Také dnes ovšem zůstává řada nezodpovězených otázek (Osobně když slyším o znovuoživení "lamarckismu" vyvolává to ve mně „imunitní reakci“ získanou v konfrontaci s anti mendelovskými teoriemi propagovanými za totality. Jedním z vážně míněných experimentů bylo ještě v šedesátých letech napájení krav bůvolím mlékem s cílem zvýšit u krav obsah tuku v mléce). Nicméně, otázka zní: bylo by přeci jenom možné najít specifické geny, které by z nějakého důvodu umožňovaly fixaci získané zkušenosti, třeba s určitým infekčním agens? Jinak řečeno, není to přeci jenom „genetika“, která určuje „epigenetiku“, např. prostřednictvím zvýšené afinity vazby transkripčních faktorů na určitou alelickou variantu v primárně přístupném úseku DNA. Jenom v takovém případě by mohly být následně atrahovány mediátory histonových modifikací. Jejich výsledkem pak může být konečná konfigurace chromatinu výhodná pro

expresi sousedícího genu. Je tedy reálná cesta k novým vakcinačním postupům nebo dokonce k vytváření rezistentních jedinců v kombinaci genetiky a epigenetiky?

Závěrem můžeme konstatovat, že předložená práce je celkově velmi dobré úrovně a splňuje požadavky pro úspěšnou obhajobu.

Ing. Jiří Plachý, CSc.