

Institute of Physiology AS CR

Ladislav Vyklický Jr., M.D., DSc.
Department of Cellular Neurophysiology
Institute of Physiology AS CR, v.v.i.
Václavská 1083, 142 20 Prague 4

Telephone: (420) 24106 2450
FAX: (420) 24106 2488
E-mail: vyklicky@biomed.cas.cz
<http://www2.biomed.cas.cz/d331/index.html>

Oponentský posudek disertační práce

Název práce: Multiple regulatory roles of the transmembrane adaptor protein NTAL in gene transcription and mast cell physiology

Autorka: Mgr. Iva Polakovičová

Disertační práce Mgr. Ivy Polakovičové je zaměřena především na studium úlohy transmembránových adaptorových proteinů, NTAL (non T-cell activation linker) a PAG (phosphoprotein associated with glycosphingolipid-enriched microdomains), v aktivaci žírných buněk. Práce je podána ve zkrácené verzi a je členěna klasicky na abstrakt, úvod, cíle, metody, autorčiny publikace, diskusi, závěry a seznam literatury. Úvod je čtivý a soustředí se v přehledné formě na podání podstatných informací, nezbytných pro vlastní experimentální práci, a logicky vyúsťuje ve stanovení si čtyř hlavních experimentálních cílů, které zahrnují: (i.) studium mechanismů, které se uplatňují v regulační roli NTAL, (ii.) charakterizaci úlohy PAG v imunitní odpovědi žírných buněk, (iii.) navržení metody, která by mohla zlepšit PCR amplifikaci některých genů a (iv.) sepsání přehledu, shrnujícího možnosti farmakologických intervencí při ovlivnění patologických stavů, které jsou podmíněny žírnými buňkami, nebo na kterých se tyto buňky podílejí. Mgr. Iva Polakovičová užila řadu moderních experimentálních přístupů; za zmínku stojí microarray analýza exprimovaných genů a užití lentavirových vektorů k modulaci exprese NTAL a PAG.

Hlavní výsledky zahrnují charakterizaci úlohy NTAL a PAG. Pomocí genových manipulací, vedoucích ke snížení nebo úplnému vymizení exprese NTAL, se podařilo charakterizovat vliv tohoto adaptorového proteinu při regulaci uvolňování mediátorů. Snížení exprese NTAL vedlo k degranulaci a ovlivnění dalších ukazatelů, jako je zvýšená chemotaxe a depolymerace filamentárního aktinu. Pomocí transkripční analýzy se podařilo identifikovat geny, které byly rozdílně regulovány v kontrolních a NTAL deficitních buňkách. Dále Mgr. Iva Polakovičová ukázala, že adaptorový protein PAG má smíšenou úlohu – pozitivní i negativní – při regulaci žírných buněk.

Dosažené výsledky studia adaptorových proteinů NTAL a PAG při aktivaci žírných buněk, předložené v disertační práci, přinesly původní nálezy vysoké odborné úrovně, které jsou dobře prezentovány. Některé výsledky byly již publikovány v prestižních mezinárodních časopisech – *PLoS One* nebo *Mol Cell Biol*. Výsledky hodnotím pozitivně a multidisciplinární přístup k řešení experimentálních otázek je příkladný a svědčí o mimořádných schopnostech Mgr. Ivy Polakovičové. K disertační práci nemám zásadních připomínek. Dávám autorce k zamyšlení, aby při přípravě podobných prací zvažila užití zkratk v menší míře.

ZÁVĚR: Předložená disertační práce obsahuje původní nálezy, které významným způsobem rozšiřují naše poznání v oblasti buněčné imunologie a membránové fyziologie. Protože autorka v předložené disertační práci dokázala, že má schopnosti řešit experimentální otázky základního výzkumu na vysoké odborné úrovni za použití moderních experimentálních metod, doporučuji, aby Mgr. Ivě Polakovičové byl udělen titul Ph.D.

Praha, 29. října 2014

MUDr. Ladislav Vyklický DrSc.

V souvislosti s tématem práce mám otázku:

Mezi imunitním a nervovým systémem existuje řada paralel. Toto platí i pro uvolňování mediátorů (histaminu, lipidů a proteinů) z žírných buněk na jedné straně, a neuropřenašečů a neuromodulátorů (malých molekul, často aminokyselin nebo jejich metabolitů, a peptidů) z neuronů na straně druhé. V obou případech je uvolňování mediátorů, ať je již popisováno jako „degranulace“ nebo „transmitter release“, rychlé a závislé na Ca^{2+} . Jsou proteiny, účastníci se splynutí granul s plasmatickou membránou žírných buněk a splynutí vezikul naplněných neuropřenašečem s presynaptickou membránou neuronů, geneticky příbuzné? Je farmakologie obou procesů podobná, např. je možné proces degranulace ovlivnit botulotoxinem, podobně, jako je tomu na nervosvalové synapsi?