

## **Posudek na doktorandskou dizertační práci Mgr. Lucie Tůmové v rámci doktorského studijního programu Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie**

Práce Mgr. Lucie Tůmové se zaměřuje na úlohu Wnt signální dráhy v regulaci homeostázy střevního epitelu a v rozvoji kolorektálního karcinomu. Podařilo se popsat úlohu nových post-translačních modifikací (především palmitoylace) na sekreci Wnt ligandů. Dále byl identifikován nový transkripční cíl TCF4/ $\beta$ -catenin Troy, který působí jako negativní modulátor Wnt dráhy a rovněž slouží jako nový marker kmenových buněk střevního epitelu. Pomocí vyhledávání v knihovnách chemických sloučenin byly identifikovány dva inhibitory Wnt dráhy, JW55 (inhibitor tankyrázy) a monensin. Účinnost obou inhibitorů byla ověřena na modelu *Xenopus laevis* a rovněž na myším modelu kolorektálního karcinomu. Dosažené výsledky lze považovat za vynikající, což dokládá i jejich publikace v časopisech s vysokým impakt faktorem.

Práce je psaná anglicky a sestává se ze stručného úvodu (25 stran) a souboru čtyř původních prací publikovaných v kvalitních impaktovaných časopisech. Práce je doplněna přehledným shrnutím a více než třemi sty literárními odkazy. Formální úroveň práce je vysoká nicméně přesto lze konstatovat řadu nedostatků. V pasáži věnované sporadické formě kolorektálního karcinomu (CRC) autorka uvádí epidemiologické údaje o výskytu této formy rakoviny v USA. To je jistě v pořádku, nicméně je překvapivé, že chybí zmínka o situaci v České republice, která patří v celosvětovém měřítku k zemím s nejvyšším výskytem CRC. V kapitole věnované etiopatogenezi je podrobně popsána pouze nejčastější forma rozvoje CRC, kdy karcinom vzniká z původně benigního adenomu v důsledku postupného nahromadění mutací v tumor supresorových genech a onkogenech. Není zmíněna alternativní cesta tvorby CRC ze serratových polypů a rovněž mikrosatelitární nestabilita, což jsou stavy s odlišným mechanismem rozvoje CRC, byť pravděpodobně s nižším zapojením Wnt dráhy. Nicméně v rámci literárního úvodu by tyto patologické stavy zmíněny být měly. Stať věnovaná použitým metodám je pojatá velmi úsporně. Detailní popis použitých metodik je obsažen v příložených publikacích, nicméně uvedený stručný seznam metodik dle mého soudu postrádá výpovědní hodnotu a rovněž není zcela kompletní. Překvapivě zde například autorka nezmiňuje použití TALEN technologie pro vytvoření geneticky modifikovaných buněčných linií. Skutečnost, že se tuto zcela novou technologii genového inženýrství podařilo úspěšně zavést se tak pozorný čtenář dozví až v doplňujících informacích k jedné z publikací. Příložené publikace jsou opatřeny stručným komentářem shrnujícím dosažené výsledky. Nicméně zde bych uvítal větší otevřenost v popisu klíčových výsledků, kterých dosáhla autorka sama a které naopak pochází z kolektivní činnosti celé pracovní skupiny, případně z dalších spoluprací. Nepochybuji o vysokém podílu autorky na dosažených výsledcích, ale domnívám se, že tento by měl být v průvodním komentáři specifikován.

Doplňující dotazy na autorku:

1. Z předkládaných výsledků je zřejmé, že monensin účinně ovlivňuje Wnt signální dráhu v buněčných modelech i na úrovni organismů. Jaký předpokládáte molekulární mechanismus účinku monensinu? Domníváte se, že pozorovaný vliv monensinu na buněčné dělení a na buněčnou smrt nádorových

buněk je způsoben výhradně inhibicí Wnt dráhy, nebo lze předpokládat i jeho zapojení do dalších signálních drah?

2. Jaká je dynamika účinku monensinu na inhibici Wnt dráhy? Pokládáte za pravděpodobnější přímý vliv monensinu na některý z enzymů zapojených do Wnt dráhy (kinázy, fosfatázy, E3 ubiquitin ligázy) nebo může jít o nepřímý vliv na expresi jednotlivých komponent Wnt dráhy?
3. V případě dlouhodobého podávání monensinu myším  $APC^{+/min}$  došlo ve sledovaném období k dramatickému snížení velikosti nádorů, což naznačuje možný úspěch profylaktické léčby familiární adenomatozní polypózy. Jaký předpokládáte efekt inhibice Wnt dráhy v již rozvinutých sporadických nádorech?

**Závěr:**

**Doporučuji disertační práci Mgr. Lucie Tůmové k obhajobě s následným udělením titulu Ph.D. za jménem.**

V Praze 27.8.2014

MUDr. Libor Macůrek, PhD.  
oponent