

Tel.: +420 549 49 3767 Fax: +420 549 49 1327 Web: <http://www.med.muni.cz/biologie> Email: [lkrejci@chemi.muni.cz](mailto:lkrejci@chemi.muni.cz)

Oponentský posudek k disertační práci Mgr. Soni Pecháčkové.

Disertační práce je zaměřena na charakterizaci WIP1 fosfatázy a její potenciální využití v terapii. Samotná disertační práce je zpracována v anglickém jazyce a je dokladem autorčiny schopnosti prezentovat výsledky práce na mezinárodním poli. Práce je strukturována na úvod do řešené problematiky, dokumentované výsledky s příloženými publikacemi a diskusi celkového přínosu práce.

Práci není nutné v rámci posudku obsáhle rekapitulovat. O kvalitě výsledků svědčí nejmýlněji to, že byly publikovány ve třech velmi dobře impaktovaných mezinárodních časopisech (Cell Cycle, J Cell Biol., a Oncotarget), přičemž u jedné publikace je Mgr. Pecháčková první autorkou. Prošly tedy úspěšně náročným recenzním řízením svědčícím o dobré kvalitě, s čímž se plně ztotožňuji. Další, přehledový, článek je navíc v současnosti v recenzním řízení.

K disertační práci mám několik připomínek a dotazů:

- 1) Práci by rozhodně pomohla větší jazyková korektura i to, aby text místy obohatila autorčina osobní interpretace publikovaných dat nad rámec jejich pouhého výčtu.
- 2) Zvýšená exprese WIP1 byla zjištěna u střevních kmenových buněk. Je tato exprese selektivní nebo obecná i pro jiné kmenové buňky?
- 3) Sloučenina CTT007093 neprokázala přímý účinek. Jak byla originálně validována a jaký je potenciální původ této diskrepance od původní publikace.
- 4) Jsou zmíněny i další WIP1 inhibitory, ale způsoby jejich identifikace již nikoliv.
- 5) Kapitola 1.7 by logicky spíše měla být před kapitolou 1.6.
- 6) Suplementární data by podle mého názoru měla být plně součástí výsledkové části.
- 7) Přítomnost kratších forem WIP1 proteinu může odrážet i translační problémy. Optimalizace exprese (IPTG, alternativní bakteriální kmeny, exprese při nižší teplotě) by mohla pomoci.
- 8) Doporučil bych limitovanou proteolýzu, tak jak je prezentována na Obr. 16, k zjištění minimální rezistentní/stabilní struktury, která by mohla být vhodná ke krystalizaci. Navíc velikost tohoto fragmentu by mohla umožnit i strukturní charakterizaci pomocí NMR.
- 9) Většinu obrázků v kapitole 5 by slušelo uvedení velikosti markerů.
- 10) Z obr. 11d mi není jasné, jak může být nejpomalejší proužek, odpovídající WIP1 proteinu o plné délce, rozpoznán pomocí His protilátek nikoliv WIP1 protilátek? Navíc i poměr obou frakcí neodpovídá gelům v panelu b a c.
- 11) Na základě potvrzené aktivity WIP1 *in vitro* a jeho inhibice pomocí GSK2830371 by bylo zajímavé otestovat i vliv inhibitoru CCT007093.

Závěrem mohu konstatovat, že disertační práce Mgr. Soni Pecháčkové má velmi dobrou úroveň a splňuje požadavky standardně kladené na disertační práci v oboru. Její autorka prokázala tvůrčí schopnosti a další předpoklady k samostatné vědecké práci a tedy i k udělení vědecké hodnosti Ph.D. Práci doporučuji k obhajobě.

V Brně dne 12. 4. 2017

Doc. Mgr. Lumír Krejčí, PhD.