

## **Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Lucie Potůčkové nazvanou „Regulační úlohy proteinů PAG a CSK v FcεRI signalizaci žírných buněk“**

Mgr. Lucie Potůčková předložila disertační práci, která je založena na 8 publikacích v impaktovaných časopisech, z nichž je na třech prvním autorem. Jedna z těchto tří prvoautorských publikací je presentována jako „manuscript 2017“. Jen dotaz úvodem – jaký je osud této publikace? Nicméně, i bez této publikace autorka plně splnila publikační požadavky kladené na studenta v doktorském studijním programu.

Práce je standardně zpracovaná. Obsahuje kvalitně rozpracovaný úvod do problematiky žírných buněk, jako přílohu tvoří vlastní publikace a práce je zakončena Obecnou diskuzí a Závěry. Cílem předložené práce bylo přispět k hlubšímu porozumění signálních drah při aktivaci žírných buněk, při degranulaci a při produkci cytokinů žírnými buňkami. Hlavními sledovanými molekulami byly proteiny PAG a CSK (C-terminální Src kináza). Dále byla důkladně studována role proteinů ORMDL a CD9 při aktivaci žírných buněk. Kromě těchto čistě vědeckých cílů bylo dalším úkolem vypracování nových a citlivějších detekčních metodik k stanovování hlavně cytokinů produkovaných žírnými buňkami. Tento vývoj nových detekčních systémů vyústil v etablování tzv. nano-immuno-PCR, která posloužila k naplňování vlastních cílů projektu a metodika byla také náplní některých z publikací doktorandky.

Mezi hlavní výsledky studia je možné uvést:

- Prokázání vlivu PAG proteinu na fyziologické funkce žírných buněk v *in vitro* a *in vivo* podmínkách,
- Objasnění role CSK v aktivaci žírných buněk, prokázání imunomodulačních vlastností (tj. pozitivní i negativní role) CSK v aktivaci a funkci žírných buněk,
- Popsání role molekuly ORMDL3. Tato molekula ovlivňuje reakci žírných buněk s IgE a moduluje produkci prozánětlivých cytokinů žírnými buňkami,
- Objasnění role CD9 v chemotaxi žírných buněk.

Tyto výsledky nejen přispěly k hlubšímu poznání fyziologie žírných buněk, jak bylo cílem práce, ale také ukázaly mnoho nového a jsou podkladem pro další studia založená na výsledcích doktorandky.

Kromě výše zmíněných vědeckých poznatků doktorandky je třeba zmínit i úspěšné vypracování nové techniky nano-immuno-PCR k detekci proteinů v komplexních biologických tekutinách. Bylo prokázáno a také publikováno, že tato citlivá metodika může sloužit k detekci cytokinů a růstových faktorů v tělních tekutinách a v supernatantech z kultur žírných buněk. Tato metodika byla použita doktorandkou k dosažené řady cenných výsledků uvedených v jejich publikacích a prezentovaných v předložené disertační práci.

Všechny publikace doktorandky úspěšně prošly jistě náročným oponentským řízením, což rozhodně dokládá jejich vědeckou kvalitu. Předložená disertační práce shrnuje tyto publikace a v závěru doktorandka diskutuje nejdůležitější získané poznatky.

Práce je napsána kvalitní angličtinou a představuje shrnutí vědecké práce doktorandky. Autorka měla to štěstí, že mohla vypracovat práci v etablované špičkové

laboratoři, která se výzkumem žírných buněk dlouhodobě zabývá. Autorka tento výzkum úspěšně posunula dopředu.

K doktorandce mám jen následující dotazy:

1. V nově vyvinuté nano-imuno-PCR využíváte monoklonální protilátky. Máte na pracovišti hybridomy produkující tyto protilátky nebo je třeba protilátky kupovat od dodavatelských firem?
2. Ve Vaší práci jste se zaměřila na analýzu funkce několika vybraných molekul při imunoreceptorové aktivaci žírných buněk. Hlavním přístupem bylo srovnání vlastností žírných buněk defektních ve vybraných proteinech (buňky s KO nebo KD vybraných molekul) s kontrolními buňkami divokého typu (WT). Při analýze molekulárních rozdílů mezi těmito buněčnými typy jste si vybrala panel známých signálních molekul, které jste analyzovala s využitím imunochemických metod a našla rozdíly, které naznačovaly na funkce Vámi studovaných molekul v daných signálních drahách.

K tomu se vztahují následující otázky:

- a). Uved'te prosím na základě čeho jste si vybírala členy panelu signálních molekul.
  - b) Panel Vámi studovaných signálních molekul mohl být širší a Vámi studované molekuly (PAG, CSK, ORMDL3) mohou mít i jiné funkce, které jste omezenou velikostí panelu signálních molekul nemusela zachytit. Popište prosím způsoby, jak by bylo možné zachytit rozdíly mezi Vámi studovanými buněčnými typy (KO/KD x WT) na globální úrovni (systémový přístup) a jaké výhody a nevýhody různé metody globální/systémové analýzy mají.
3. Předložená disertační práce je založená na celé řadě modelů a metodických přístupů. I když je podíl autorky deklarován školitelem v úvodu dizertační práce, mohla by doktorandka blíže popsat svůj podíl na nejdůležitějších dosažených výsledcích?

Závěrem je možné konstatovat, že doktorandka prokázala schopnost samostatné vědecké práce, dosáhla řadu prioritních výsledků, které kvalitně zpracovala, analyzovala a diskutovala. Splnila tak požadavky kladené na doktoranda a proto plně doručuji přijetí předložené disertační práce jako podkladu k udělení titulu Ph.D. za jménem.

V Praze dne 9. 4. 2017.

Prof. RNDr. Vladimír Holáň, DrSc.