CHARLES UNIVERSITY PRAGUE

Faculty of Natural Sciences
✉ **128 44 PRAGUE 2, Viničná 5**
Department of Genetics and Microbiology

Doc.RNDr.Jitka Forstová,CSc
☎ +420 +2 21951730, fax +420 +2 21951729
E-mail: jitkaf@natur.cuni.cz

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Lenky Rossmeislové

Cílem disertační práce s názvem „Promyelocytic leukemia protein function in normal, tumor and senescent human cells“, vedené Doc. RNDr. Pavlem Hozákem a vypracované na ÚMG AVČR, bylo přispět k objasnění funkcí PML proteinu v lidských buňkách.

Práce pojednává o třech dílčích cílech, z nichž každému je věnována jedna publikace: První z cílů - Optimalisace podmínek kultivace pro zesílení adipogenese lidských mesenchymalních kmenových buněk (hMSC) a posléze zhodnocení jejich využití jako modelu pro studium lidské adipogenese - poněkud vybočuje z problematiky dalších částí práce. Publikace z r. 2003 v Obesity Research (jejíž je Lenka, tehdy ještě Janderová prvním autorem) vznikla během jejího pobytu v zahraničí a je spíše svým zaměřením pokračováním předchozího autorčina výzkumu v laboratoři Dr. Kopeckého i když buňky použila k řešení následujících cílů. .Další dva cíle se už týkají PML genu a jeho produktu - i) zjistit roli acetylace chromatinu v expresi PML genu (Publikace v časopise Blood, IF>10, autorka je 3. ze šesti autorů) a ii) zjistit stav PML exprese a jaderné lokalisace v diferencovaných a senescentních hMSC a dalších buňkách (publikace, kde L. Rossmeislová je 1. autorkou, byla přijata do J. Structur. Biol.).

Práce sepsaná v angličtině začíná **abstraktem** a pokračuje literárním přehledem, který autorka nazývá **General Introduction.** Zde popisuje v první podkapitole velmi podrobně problematiku PML proteinu – regulaci genové exprese pml genu, strukturu PML proteinu, jeho posttranslační modifikace (sumoylace, fosforylace), zabývá se funkcí jednotlivých isoforem PML generovaných alternativním sestřihem, vztahu „PML bodies“ k tumor supresorovým drahám a k poškození DNA. Druhá podkapitola se věnuje jaderku a jeho funkcím. Poslední dvě kratší kapitoly jsou věnovány buněčné senescenci a lidským mesenchymálním kmenovým buňkám. Literární přehled je velmi dobře zpracován a zvláště podrobná kapitola o PML proteinu je velmi hodnotná a mohla by být po doplnění recentními výsledky publikována jako užitečné review.

Následují krátce, avšak výstižně formulovanné **cíle práce** a dále **přehled použitých experimentálních metod.** Z něho vyplývá, že autorka zvládla kromě buněčných manipulací metody jako chromatinová imunoprecipitace, RT-PCR techniku, proteinové analysy metodou Western blot, ale také fluorescenční mikroskopii, „run on transcription assay" a imuno-elektronovou mikroskopii.

Kapitolu výsledky autorka rozčlenila podle tří publikací (a také tří formulovaných cílů). Zde mám v hodnocení usnadněnou práci, protože všechny výsledky prošly recensním řízením kvalitních mezinárodních časopisů. Rovněž následující kapitola diskuse je členěna tak jako výsledky a završena ještě generální shrnující diskusí (která je možná už zbytečná vzhledem k následující kapitole **„ Conclusions**" kde je podobné a podrobnější shrnutí.) Po seznamu citací, kterých je přes 270 následují kopie tří autorčiných publikací.

Otázky k diskusi:

1. V závěru diskuse na str. 91 píšete že interakce PML s jadérkem je závislá na jadérkové aktivitě a může být důležitá pro regulaci buněčného růstu nebo senescence. Práce „Condemine et al. z letošního roku naznačuje že isoforma PML1 obsahuje signál cílení PML k jadérkům v buňkách vystavených stresu nebo v senescentních buňkách. Můžete komentovat tuto práci? Tito autoři také nalezli kolokalisaci těchto s jaderky asociovaných PML a polyubiquitinu. Jak souvisí PML, senescence a proteasomové štěpení?

2. Mnoho prací ukazuje na roli PML tělísek v protivirové obraně. Je možné naopak, že by některé DNA viry mohly mít ze sousedství PML a replikačních „factories" virových genomů užitek?

Závěrem:

Disertační práce Mgr. Lenky Rossmeislové je velmi hodnotná. Autorka v ní dokázala, že je zkušená a výkonná experimentátorka s velmi fundovaným teoretickým zázemím. Práce je velmi dobře sepsána a obsahuje kvalitní původní výsledky publikované v renomovaných mezinárodních časopisech.

Doporučuji, aby disertační práce byla přijata jako podklad pro další řízení k udělení doktorského titulu.

V Praze 14.12.2006 **Jitka Forstová**