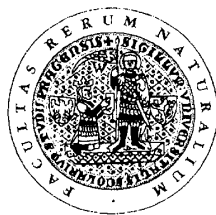


# CHARLES UNIVERSITY PRAGUE



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 mesenchymálních 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 isoform PML generovaných alternativním sestřihem, vztahu „PML bodies“ k tumor supresorovým drahám a k poškození DNA. Druhá podkapitola se věnuje jadernu 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 formulované **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 analýsy 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 recenzním 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 jadérové 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 našli kolokalisaci těchto s jadérky 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.**