

Doc. David Staněk, Ph.D.

Vedoucí

Oddělení biologie RNA

Posudek dizertační práce Mgr. Ladislava Merty

Ladislav Merta se ve své dizertační práci „Analýza plasticity invazivity nádorových buněk“ zabývá schopností nádorových buněk měnit svoji morfologii a migrovat mezibuněčným prostorem. V rámci tohoto projektu se na začátku soustředil na vytvoření a charakterizaci vhodného buněčného modelu a zaměřil se na kultivaci nádorových buněk v 3D matrici, která lépe modeluje přirozené prostředí v těle. Autor použil různé buněčné modely a analyzoval změny v jejich expresním profilu při mezenchymálně-améboidním přechodu v 3D prostředí. Porovnáním několika modelů Ladislav Merta našel tři geny, jejichž exprese je zvýšená při indukci mezenchymálně-améboidním přechodu. Dva z těchto tří genů kódují dlouhé nekódující RNA MALAT1 a NEAT1. V další práci se autor zaměřil na charakterizaci role MALAT1 v mezenchymálně-améboidním přechodu a invazivitě nádorových buněk. Do MALAT1 genu vložil kazetu obsahující GFP a polyA signál, který by měl předčasně ukončit MALAT1 transkripci a snížit tak expresi MALAT1. Ladislav použil dvě buněčné linie, ze kterých se mu podařilo vyselektovat klony se sníženou expresí MALAT1 a provést jejich základní charakteristiku týkající se mezenchymálně-améboidním přechodu, proliferace a invazivity.

Při čtení dizertační práce jsem měl smíšené pocity. Úvod mě nadchl, je velmi pěkně napsaný. Ale část s výsledky mě ze začátku zklamala, až po chvíli čtení jsem pochopil, že autor ve výsledkové sekci neuvedl publikované výsledky, na které jsem se musel podívat do příložených publikací, zejména pak do přílohy č. 3. Tomuto přístupu nerozumím, může autor vysvětlit, proč do Výsledků nedal všechny své výsledky včetně těch publikovaných? Práce by se pak daleko lépe četla. V Diskuzi autor diskutuje své výsledky z pohledu chování nádorových buněk a jejich vlastností. Diskuze se mi líbila, ale většina výsledků je korelativních a nesoustředí se na odhalení molekulárních mechanismů. Abych byl konkrétní, velmi jsem jako molekulární biolog ocenil přístup, kdy Ladislav Merta snížil expresi MALAT1 pomocí kazety, která ovlivňuje transkripci MALAT1 genu. Získal tak krásný model pro studium MALAT1 funkce. Ale pak se autor zaměřil jen na popis změny chování těchto buněk, aniž by se snažil zjistit molekulární podstatu proč k této změně došlo. Chápu, že je to velmi obtížný úkol, který možná přesahuje rámec PhD projektu, nicméně jsme tu od toho, abychom řešili těžké problémy. Dokázal by při obhajobě autor navrhnout nějaké pokusy, které by mohli vést k pochopení molekulární funkce MALAT1 u améboidní invazivity? Nebo mě přesvědčit, že takové pokusy nejsou možné a nelze je se současnými technologiemi udělat.

Nicméně i přes zmíněné nedostatky je předložená dizertační práce solidní a ukazuje na to, že Ladislav Merta zvládl základy vědecké práce, zavedl nové buněčné modely nádorové invazivity, provedl jejich základní charakterizaci a detailněji popsal vliv lncRNA MALAT1 na nádorovou invazivitu. Doporučuji proto předloženou dizertační práci k obhájení a udělení titulu PhD.

Doc. David Staněk, Ph.D.

Vedoucí

Oddělení biologie RNA

K dizertační práci nemám kromě výše uvedených připomínek žádné zásadní dotazy. Spíše ze zvědavosti:

1. NEAT1 je klíčovou strukturní molekulou paraspeckles. Dochází u buněk po MAT ke změnám ve struktuře paraspekles?
2. Autor do genu MALAT1 vložil gen pro GFP. Byl tento gen exprimován a existuje u jednotlivých klonů, ať již negativní nebo pozitivní, korelace mezi expresí GFP a MALAT1?

V Praze 9.10.2020

David Staněk