

V Brně dne 6. června 2021

Posudek na disertační práci Mgr. Kateřiny Kreisingerové

Předkládaná doktorská disertační práce „**Molekulární mechanismy nádorové patogeneze signální cesty Hedgehog u vybraných nádorových typů**“ se věnuje studiu významu buněčné signální dráhy Hedgehog (HH) v nádorových buňkách, především v kontextu maligního melanomu, a analýze dopadů cílené inhibice této dráhy. Jedná se o velmi aktuální problematiku s možným praktickým dopadem na protinádorovou terapii.

Práce o celkem 113 stranách je napsána v anglickém jazyce, a to velmi dobře, čtivě a s minimem překlepů nebo gramatických chyb. Úvodní část předkládané práce je tvořena literárním přehledem, v němž jsou sice krátce, ale výstižně a přehledně shrnuty nejdůležitější dosavadní poznatky o signální dráze HH, její regulaci a jejím významu v biologii nádorových buněk. Vzhledem k zaměření práce je část prostoru věnována dráze HH v maligním melanomu a možností její cílené inhibice a také úloze transkripčního faktoru MITF, jehož funkce je v rámci experimentální části práce také studována.

V další části práce jsou specifikovány cíle disertační práce. Hlavních cílů je celkem pět a jsou zaměřeny na charakterizaci významu dráhy HH v nádorových buňkách a účinku nízkomolekulárních inhibitorů této dráhy. Dva vedlejší cíle jsou pak věnovány transkripčnímu faktoru MITF.

Na cíle práce navazuje krátká část věnovaná použitým metodám, která odkazuje na jednotlivé publikace autorky uvedené ve výsledkové části. Výčet metod, které autorka při přípravě své disertační práce sama používala, ilustruje, že si dobře osvojila široké spektrum technik buněčné a molekulární biologie. Zvolené metody zcela odpovídají sledovaným cílům práce.

Výsledková část je tvořena komentovaným přehledem publikovaných originálních prací autorky. Jedná se o celkem čtyři publikace v kvalitních časopisech s IF, z nichž tři práce jsou prvoautorské. V první práci, publikované v časopise Cell Death & Disease, autorka identifikovala Survivin, důležitý negativní regulátor apoptózy, často nadměrně exprimovaný v nádorových buňkách, jako nový cíl dráhy HH. Další dvě publikace byly věnovány studiu účinků nízkomolekulárního inhibitoru GANT61, který inhibuje dráhu HH na úrovni transkripčních faktorů GLI. V první z těchto prací byla pozorováno synergické působení tohoto inhibitoru na buňky melanomu v kombinaci s nízkomolekulárním léčivem obatoclox, které cílí na

Masarykova univerzita, Lékařská fakulta

Kamenice 753/5, 625 00 Brno, Česká republika

T: +420 549 49 2910, E: info@med.muni.cz, www.med.muni.cz

antiapoptické proteiny rodiny BCL2. V následující práci byla na poměrně rozsáhlém panelu buněčných linií sledována exprese jednotlivých komponent dráhy HH v nádorových buňkách a současně jejich citlivost k látce GANT61. Všechny nádorové buněčné linie exprimovaly transkripční faktory GLI1 a GLI2 a velká část z nich byla citlivá k inhibitoru GANT61, což naznačuje terapeutický potenciál pro inhibitory cílící na dráhu HH na úrovni transkripčních faktorů GLI. Čtvrtá publikace autorky sledovala vliv řízeného snížení hladiny transkripčního faktoru MITF pomocí indukované exprese specifické shRNA na buňky melanomu. Vzhledem k významu, jenž je proteinu MITF v buňkách melanomu obvykle přikládán, bylo velmi překvapivé zjištění, že indukované snížení exprese MITF má na proliferaci buněk melanomu minimální vliv.

Následuje shrnutí a diskuse získaných výsledků, jež spolu s poměrně obsáhlým seznamem použité literatury svědčí o tom, že autorka velmi dobře zvládla teoretické pozadí studované problematiky. O vědeckém přínosu předkládané práce a významu získaných výsledků svědčí nepochybně i to, že již prošly recenzním řízením a byly publikovány v zahraničních odborných časopisech s IF.

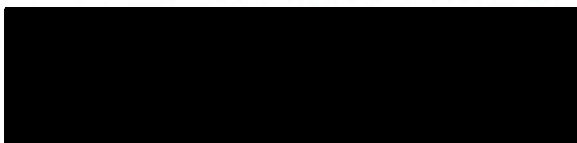
Celkově lze říci, že předkládaná práce je po jazykové, stylistické i odborné stránce na velmi dobré úrovni a splnila sledovaný cíl. Práce přináší nové, velmi zajímavé poznatky s potenciálním dopadem nejen na daný vědní obor, ale i na klinickou praxi, konkrétně na terapii maligního melanomu. Dle mého názoru tedy plně odpovídá požadavkům kladeným na doktorskou disertační práci.

Práci tedy hodnotím velmi kladně a mám k ní jen několik konkrétních vzájemně souvisejících dotazů, jež lze rozčlenit do tří hlavních okruhů:

- 1) V úvodu disertační práce byly zmíněny nejen aktivační, ale i represorové komplexy obsahující transkripční faktory rodiny GLI (za absence ligandů aktivujících dráhu HH). Cílí oba tyto typy transkripčních komplexů na stejný soubor genů? Lze si představit, že odstranění dominantní represorové formy GLI (např. pomocí siRNA nebo nízkomolekulárním inhibitorem) může i za nepřítomnosti aktivátorů dráhy HH vést k aktivaci cílových genů GLI jinými dostupnými transkripčními faktory?
- 2) V práci byl využíván nízkomolekulární inhibitor GLI GANT61. Bohužel chybí hlubší popis mechanismu účinku této látky na GLI. Jakým mechanismem tato látka funkci GLI inhibuje? Jsou popsány nějaké „off-targets“? Je působení GANT61 na dráhu HH ekvivalentní účinku inhibici exprese GLI pomocí siRNA, případně působení jiných nízkomolekulárních inhibitorů této dráhy, např. cílících na SMO? Inhibuje GANT61 jak aktivační, tak i represivní komplexy obsahující GLI? Mohl by rozdíl v působení na různé komplexy obsahující GLI vysvětlit pozorovaný neočekávaný pokles hladiny MITF po působení GANT61?
- 3) Byla použita shRNA cílící na MITF specifická pro izoformu MITF-M? Podobně, byly použité protilátky specifické pouze pro tuto izoformu? Pokud ne, byla sledována také subcelulární lokalizace MITF, která by mohla ukázat na transkripčně inaktivní frakci MITF asociovanou s lysozomem?

Závěr: Předkládaná disertační práce splňuje požadavky kladené na disertační práci v doktorském programu *Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie* a jasně prokazuje předpoklady Mgr. Kateřiny Kreisingerové k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu Ph.D.

Práci doporučuji k obhajobě.



Mgr. Stjepan Uldrijan, CSc.

Vedoucí výzkumné skupiny

Biologický ústav, Lékařská fakulta, Masarykova univerzita

Kamenice 753/5, 625 00 Brno

Tel.: 549 494 040

E-mail: uldrijan@med.muni.cz