

Oponentský posudek na doktorskou dizertační práci

MUDr. Petra Heneberga

New aspects of the cell submembrane signaling

Práce MUDr. Petra Heneberga, zpracovaná pod vedením RNDr. Petra Drábera, DrSc., se zabývá časoprostorovými aspekty přenosu signálu na vybraných buněčných liniích, především žírných buňkách, basofilech a hepatocytech. Autor jako součást svých výsledků předkládá 7 publikovaných prací a jeden rukopis zasláný k recenznímu řízení. Autor strukturuje výsledky svého úsilí do sedmi rámcových cílů.

1. Role aktinového skeletu v signalizaci žírných buněk prostřednictvím Fc ϵ RI a GPI-kotvených proteinů.
2. Role adaptoru NTAL v signalizaci žírných buněk prostřednictvím Fc ϵ RI a Thy-1.
3. Efekty kyslíkových a NO radikálů na signalizaci tyrozínových fosfatáz v žírných buňkách.
4. Časoprostorová distribuce signálních komplexů Thy-1 a dalších glykoproteinů v signalizujících buňkách.
5. Tvorba a funkce signálních komplexů STAT3 v průběhu signalizace interleukiny.
6. Metodický cíl, týkající se potvrzení významu nově zavedené metody rychlé fixace plasmatických membrán neadherujících buněk.
7. Hledání nových nереceptorových tyrozínových fosfatáz v transkriptomu žírných buněk a charakterizace funkce PTP20.

Publikace a význam

Cíle a jim odpovídající publikace pokrývají relativně širokou oblast a svědčí o tom, že autor patří ke klíčovým členům tvůrčího týmu školitele. Publikace jsou uveřejněny ve špičkových časopisech oboru molekulární imunologie, prošly náročným recenzním řízením, a představují nezpochybnitelný tvůrčí přínos. Některé výsledky se nabízejí k farmakologickému uplatnění a celá řešená problematika má úzký vztah k chorobám imunitního systému. Předkládaný soubor je třeba hodnotit jako vysoce nadprůměrný z hlediska kombinace kvality a kvantity.

Autorův podíl na publikacích

Autor popisuje svůj podíl na předkládaných publikacích na stránkách 22 a 23. Jeho podíl zahrnuje experimentální práci, která byla klíčová pro dosažení publikovatelných výsledků. Tento podíl se zejména týká biochemických analýz signálních komplexů, průtokové cytometrie, technik fluorescenční mikroskopie či, mimo jiné, enzymových testů fosfatáz. U cílů 3, 4 a 7 autor i navrhl a sepsal rukopisy publikací. Uvedený podíl zjevně odráží velkou samostatnost a dokladuje schopnost autora uplatnit se samostatně a úspěšně v rámci své vědecké dráhy.

Metody

Metodická šíře, kterou autor obsáhl, je vynikající. Autor dokumentuje zvládnutí technik práce s buněčnými kulturami, přípravy poly- i monoklonálních protilátek, precipitace v různých uspořádáních, biochemických separací, enzymových testů fosfatáz a kináz, pokročilé mikroskopie, průtokové cytometrie a rovněž analýzy FRET, kterou v laboratoři zavedl.

Disertační práce

Vlastní disertační práce má 194 stran a je psána anglicky. Soubor publikací je doplněn úvodem na 21 stranách a diskusí významu výsledků na 13 stranách včetně shrnutí nejdůležitějších závěrů. Úvod je členěn na podkapitoly věnované studovaným signálním proteinům, každá podkapitola stručně shrnuje význam proteinu/proteinů pro signalizaci studovaných buněčných typů a do kontextu pak zařazuje i autorův přínos. Diskuse shrnuje hlavní dosažení předkládaných prací s důrazem na přínos autora. Úvod, diskuse, jakožto i další doprovodné části souboru jsou psány na odpovídající formální úrovni. Text odráží autorův přehled v relativně velmi široké a rychle expandující problematice a dokládá, že má schopnost svoje výsledky diskutovat a názory formulovat. K práci nemám připomínky.

Otázky do diskuse

ad 6.4) – autoři v práci 4 ukazují model, ve kterém aktivovaný Thy1.1. ko-immobilizuje LAT i NTAL, jakkoli se tyto adaptory v klidovém stavu vyskytují v odlišných mikrodoménách. V diskusi autor naznačuje, že závěry práce 4 odpovídají závěrům práce Drbal et al. (2007). Jsou současné výsledky autora a spolupracovníků plně v souladu s modelem, ve kterém segregace signálních konstituentů do velmi malých mikrodomén slouží spíše k inhibici signálních enzymů v klidovém stavu, zatímco aktivace je především zprostředkována protein-proteinovými interakcemi, a to i napříč mikrodoménami (viz Drbal et al., 2007) ?

ad 6.8) – autoři v práci spekulují, že odlišné partice PTP20 v komplexech s proteiny PAG či Csk (při srovnání RBL a BMMC) souvisejí s odlišným fungováním PTP20 a potažmo i s rolí PTP20 jako tumorového supresoru. Má autor nějaké indicie ukazující na funkční odlišnosti konkrétních signálních komplexů s/bez PTP20 ? Může autor spekulovat co je příčinou absence interakce Csk a PAG v BMMC ?

Shrnutí

Práce jednoznačně splňuje jakož i překračuje nároky, kladené na doktorské dizertační práce.

Autor prokázal, že má předpoklady k samostatné tvořivé vědecké práci a k udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.

V Praze dne 7. 1. 2008 zpracoval Doc. RNDr. Petr Folk, CSc.

