



Posudek na dizertační práci

„Mnohočetné formy dipeptidylpeptidázy-IV a fibroblastového aktivačního proteinu v mozkových nádorech“

autorky Mgr. Ivany Matrasové, Ústav biochemie a experimentální onkologie, 1. LF UK, Praha.

Vedoucí dizertační práce: prof. MUDr. Aleksí Šedo, DrSc.

Dizertační práce je psána v češtině, má rozsah 61 stran se standardním členěním. Práce obsahuje 4 přílohy sestávající ze tří primárních publikací v angličtině (z toho jedné prvoautorské) a jedné posterové prezentace autorky na zahraniční konferenci.

Cílem práce bylo charakterizovat formy dvou proteáz, dipeptidylpeptidázy IV (DPP-IV) a fibroblastového aktivačního proteinu (FAP) v glioblastomu a mozkových metastázách jiných primárních nádorů a posoudit buněčný původ těchto forem.

Téma práce je vysoce aktuální, vzhledem k maligní povaze glioblastomu. Významná je povaha těchto proteáz, zejména pak schopnost štěpit biologicky aktivní proteiny a tím regulovat proliferaci, migraci, apoptózu buněk a angiogenezi v nádorovém mikroprostředí.

K charakterizaci forem proteáz DPP-IV a FAP autorka využila celé spektrum převážně biochemických technik, včetně 1D a 2D elektroforézy, western blotu, ELISA, sledování proteolytické aktivity či studia vlivu N-glykosylace/deglykosylace na enzymovou aktivitu a výskyt forem o různé molekulové hmotnosti (Mw) a izoelektrickém bodu (pI). Buněčný původ těchto proteáz byl studován na *in vitro* kulturách různých buněčných typů nádorového stroma a gliomových liniích.

Ve svých výsledcích autorka popsala několik forem DPP-IV a FAP. Jejich zdroji byly jak transformované gliové buňky, tak stromální buňky. Z deglykosylačních experimentů vyplývá, že výskyt mnoha forem těchto dvou proteáz v nádorové tkáni pravděpodobně není způsoben různou glykosylací.

Autorka také nově popsala mírně bazickou formu FAP s pI 7,0-8,5 (vedle četně se vyskytujících forem pI 4-6,5) přítomnou v glioblastomu i v mozkových metastázách. Dále zjistila, že zdrojem bazické formy FAP mohou být mezenchymové buňky s charakteristikami nádorově asociovaných fibroblastů. Tvorba bazické formy FAP byla *in vitro* indukována transformujícím růstovým faktorem beta 1 (TGF- β 1).

Otázky k diskuzi:

- 1) Ve své práci používáte gliomové kmenové buňky (GSC) a gliomové nekmenové buňky (nonGSC). Jak se tyto buňky navzájem liší a jaký je jejich význam v růstu glioblastomu? Jak si vysvětlujete, že DPP-IV a FAP jsou exprimovány zejména v nonGSC v porovnání s GSC?
- 2) Na str. 27, odst. 2, popisujete odvození mezenchymových kultur s charakteristikami fibroblastů (KoF) z nenádorové mozkové tkáně (Trylcova a kol., 2015). Přítomnost fibroblastů v normální mozkové tkáni je neobvyklá. Můžete tyto KoF kultury blíže popsat?

- 3) Pro sledování katalytické aktivity DPP-IV a FAP byly vzorky separovány izoelektrickou fokusací či SDS PAGE. Bylo sledováno nebo je známo, nakolik denaturující podmínky pro tyto separace ovlivňují enzymovou aktivitu sledovaných proteáz?
- 4) Predikovaná molekulová hmotnost FAP proteinu je 88 kDa. V mozkových metastázách byly detekovány formy odpovídající 100 kDa, 150 kDa a více než 200 kDa. Bylo ověřeno (např. jinou protilátkou nebo měřením aktivity FAP), že tyto formy jsou skutečně FAP? Byla elektroforéza (obr. 3) prováděna za redukujících a denaturujících podmínek?
- 5) Proč byly vzorky po deglykosylaci pro western blot separovány v nedenaturujících a neredukujících podmínkách (str. 35)?

Formální stránka:

Formální úroveň práce je vysoká. Práce obsahuje minimum překlepů. Drobnou výtku mám k diskusi, kde jsou sice zmíněny potřebné informace, ale mohly by být lépe interpretovány v kontextu se současným poznáním (diskuze místy vypadá jako seznam informací, jimž chybí propojení, shrnutí, či vyzdvižení významu).

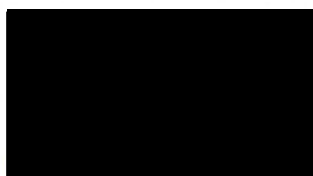
Celkové hodnocení:

Vytyčené cíle práce byly splněny. Výsledky byly publikovány v mezinárodních časopisech. Výsledky odhalují rozmanitost proteinových forem DPP-IV a FAP v nádorovém mikroprostředí a otevírají cestu k dalšímu výzkumu funkce jednotlivých forem v patogenezi mozkových nádorů s potenciálem pro léčbu mozkových nádorů.

Autorka prokázala předpoklady k samostatné tvořivé vědecké práci a dalšímu tvůrčímu rozvíjení vědeckých poznatků v oblasti nádorové biologie a biochemie.

Práci doporučuji k obhajobě a k udělení vědeckého titulu „Ph.D.“ za jménem.

Mgr. Helena Kupcová Skalníková, Ph.D.
Laboratoř aplikovaných proteomových analýz
Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR
Rumburská 89, 277 21 Liběchov



V Liběchově dne 4. dubna 2023