

Oponentský posudek na doktorskou dizertační práci Mgr. Magdaleny Uzlíkové

"Udržování integrity chromosomů na modelu *Giardia intestinalis*"

"Maintenance of chromosome integrity in *Giardia intestinalis* as a model organism"

Mgr. Magdalena Uzlíková předkládá k obhajobě dizertační práci, která se věnuje studiu buněčného cyklu a integrity chromosomů parazitického prvoka *Giardia intestinalis*. *Giardia intestinalis* představuje nejenom významného lidského parazita, který se vyskytuje kosmopolitně a především v tropických oblastech infikuje stovky milionů osob, ale jedná se i významný modelový organismus využívaný ke studiu základních biologických pochodů jako je např. dělení buněk. Vlastní práce se skládá ze čtyř publikací, dvě se zabývají strukturální organizací neobvyklých chromosomů a jejich dělením a také průkazem přítomnosti telomer a funkční telomerázy u tohoto prvoka. Další dvě práce se věnují studiu vlivu dvou inhibitorů na dělení giardií, buněčný cyklus a na strukturální a funkční poškození chromosomální DNA: afidikolin je inhibitor DNA polymerázy a metronidazol je lékem volby giardiózy. Dizertační práce navazuje na výzkum a rozšiřuje studie, které byly v laboratoři školitelky Magdaleny Uzlíkové v této oblasti v minulých letech provedeny a publikovány. Ty často využívají inovativní a unikátní výzkumné metody a poskytují nové pohledy na strukturu a funkční vlastnosti buněk giardií. Předkladatelka si během řešení doktorské dizertační práce musela osvojit a využívala poměrně širokou škálu cytologických (studium chromozomů pomocí světelné i elektronové mikroskopie), cytochemických (flourescenční in situ hybridizace, průtoková cytometrie), biochemických i molekulárně biologických metod (klonování, buněčná transfekce expresními plasmidy apod.). Některé z těchto metod, jako např. studium aktivity telomerázy pomocí protokolu na amplifikaci telomerových repetící („TRAP assay“), byly u giardií použity poprvé .

Předložená práce se skládá z komentovaného souboru 4 publikací, který svou strukturou, jak po stránce formální, tak obsahové zcela odpovídá současným požadavkům na dizertační práci. Čtyři úvodní kapitoly v rozsahu 30 stran představují "Literální přehled" a jsou věnovány současným znalostem evoluční pozice, životního cyklu, buněčného cyklu, léčbě giardiózy a organizace chromozomů a vlivu inhibitorů na jejich rozchod.

Připomínky k literárnímu přehledu: Tato část je přehledně a jasně napsána, text obsahuje jen malé množství překlepů a formálních nepřesností. Dizertace obsahuje 121 citací, které jsou relevantní

k předkládanému textu a lze pouze upozornit na některé nejednotnosti a formální chyby v citacích. Upozornil bych na jednu významnější nepřesnost v literárním přehledu. V kapitole 1.1. autorka uvádí, že *Giardia* byla v minulosti společně s rody *Trichomonas*, *Encephalitozoon* a *Trypanosoma* řazena k primitivním, evolučně časně vzniklým, amitochondriálním eukaryotům. To jistě platí pro první dvě skupiny, ale ne pro rod *Trypanosoma*, který má funkční mitochondrii a komplexní buněčnou stavbu. Naopak mezi primitivní amitochondriální eukaryota bývala v minulosti řazena *Entamoeba*. Také převzatý obrázek 1 na straně 14 není příliš čitelný a zřetelný, v literatuře lze jistě nalézt přehlednější schémata.

Výsledkovou část dizertační práce tvoří 4 publikované práce, ve dvou pracích je Mgr. Magdalena Uzlíková první autorkou a na práci se podílela z 80 % a 85 %, včetně plánování a provádění pokusů a přípravy rukopisu. Tyto práce jsou publikovány v předním odborném časopisu, který se zabývá molekulární biologii a biochemií parazitů a má „impact factor“ 2,15. Ve dvou zbývajících publikacích je druhou autorkou. V rámci svého studia se autorka podílela na řešení významných grantových projektů. Absolvovala dvě zahraniční dvou a tříměsíční stáže v laboratořích v USA a Švédsku. Své výsledky prezentovala na českých i mezinárodních konferencích ve formě přednášek a posterových sdělení.

V následujících částech dizertační práce jsou na deseti stránkách odděleně shrnuty výsledky a uvedena diskuze ke všem čtyřem publikacím. Na straně 43 jsou stručné závěry z jednotlivých publikací. Zde mi chybí širší a obecnější závěrečná pasáž, která by propojila a diskutovala výsledky ze všech čtyř uvedených publikací společně a navrhla další možné směry výzkumu. Lze konstatovat, že cíle, které byly stanoveny a jsou uvedeny na straně 31, byly splněny.

Jelikož byly předložené publikace uveřejněny v prestižních časopisech, které prošly důkladným recenzním řízením, mají mé dotazy k tematice jednotlivých publikací spíše obecný charakter:

1. Studium struktury telomer u giardií odhalilo strukturní rozdíly od jiných eukaryot. Může tedy tento výzkum telomer a telomeráz u giardií kromě základních biologických a evolučních informací přinést i praktické informace, které by bylo možno využít např. k novým způsobům antiparazitární léčby?
2. Je známá výrazná a široce rozšířená rezistence giardií k léčbě metronidazolem. Může autorka shrnout některé příčiny rezistence u giardií a porovnat tuto rezistenci s dalšími mikroaerofilními

prvky, trichomonádami a *Entamoeba histolytica*, u nichž je metronidazol také lékem volby?

3. Jaký evoluční, či jiný význam může mít aneuploidie popisovaná u giardií?

4. Giardie jsou bohaté na cytoskeletální struktury včetně mikrotubulů. K synchronizaci buněčného cyklu byl ve čtvrté publikaci použit afidikolin. Proč nelze k synchronizaci u giardií použít mikrotubulární inhibitory, jako např. kolchicin či vinblastin, které se u jiných druhů používají.

Závěr: Závěrem mohu s potěšením konstatovat, že předložená dizertační práce a publikace, které jsou její součástí, jednoznačně prokazují kvalifikaci Mgr. Magdaleny Uzlíkové k samostatné i týmové vědecké práci. Dizertace i předložené publikace mají dobrou odbornou úroveň a jejich formální stránka zcela odpovídá požadavkům na doktorskou dizertační práci. Proto navrhuji, aby po úspěšné obhajobě byla autorce udělena vědecká hodnost Ph.D.

V Praze, 20. září 2019

MUDr. RNDr. František Stejskal, Ph.D.