



Oponentský posudek na magisterskou práci Bc. Elišky Bubákové na téma *Klinická klasifikace sekvenčních variant v nekódujících regulačních oblastech genů predisponujících ke vzniku karcinomu prsu*

Kolegyně Bubáková pod vedením Mgr. Jana Ševčíka zaměřila svou diplomovou práci na nekódující varianty v regulačních oblastech jednoho ze stěžejních genů predispozice řady nádorů, zejména prsu, *BRCA1*. Poslední dekáda je ve znamení kumulace stále nových poznatků o tzv. „genomic landscape“ zejména maligních onemocnění, přičemž nalezené varianty jsou mnohdy v intergenních regionech či s nezřetelným funkčním dopadem nalezených variant na predispozici onemocnění či jeho prognózu. V současné době je velice aktuální poptávka po funkčních dopadech nalezených variant, přičemž dostupnost informací se omezuje na *in silico* přístupy či Luciferázovou techniku. Gen účastní se homologní DNA reparace *BRCA1* je velice zásadní i z terapeutického důvodu, neboť jeho inaktivační mutace se spolu s inhibicí PARP využívá v souvislosti s konceptem „syntetické letality“ nádorových buněk. Velice je tudíž třeba ocenit odhodlání diplomantky i jejího školitele rozlousknout funkční dopad variant *BRCA1* genu cestou vývoje funkční assaye. Práci jsem pročetl s velkým zájmem, neboť úloha DNA oprav v karcinogeneze je nejvlastnějším zájmem našeho pracoviště.

Práce je bezesporu metodicky bohatá a prezentované výsledky jsou poctivě a spolehlivě ověřeny a autorka otevřeně diskutuje problémy, se kterými se setkala. Navíc využití metodické postupy jsou moderní. Zmapování funkčních dopadů promotorových variant *BRCA1* je velice významným a novátorským počinem.

Formální kvalita předloženého spisu

Diplomová práce je formálně pečlivě vypracována s patřičným členěním na příslušné kapitoly. Práci provází řada doprovodných obrázků a tabulek. Zde mám jednu připomínku: obrázky, které nejsou originálním výtvozem autorky, musí obsahovat odkaz k originálnímu zdroji.

Jazyk

Vesměř bez zásadních prohřešků proti pravidlům mateřštiny. I přes pečlivost vypracování jazyk prozrazuje jistý spěch při kompletaci práce: v Abstraktu na str. 2 chybí sloveso, občas se vloudí nepřesné formulaci či laboratorní slang. Nicméně tato drobná pochybení nikterak nesnižují kvalitu práce.

Hodnocení částí předkládaného spisu

1 Literární přehled

Pokrývá vyčerpávajícím způsobem oblast karcinogeneze prsů, zejména pak v souvislosti s souvislosti s *BRCA1*. Pojata je zevrubně i molekulárně epidemiologická oblast tohoto onemocnění, jakož i další nádorová onemocnění s *BRCA1* mutacemi v etiologii. Zejména gen autorčina zájmu je pojednán velmi podrobně. Autorka prokazuje široký rozhled, zpracovala značné množství literatury a prokázala schopnost se zorientovat ve značném množství literárních odkazů. Snad mohla v některých případech volit novější odkazy. Úvodní kapitola pak obsahuje řadu obrázků s velmi pečlivými legendami.

2 Materiál a metody



Tato kapitola rozsáhlá úměrně k celé škále a bohatosti využitých metodik. Metody jsou patřičně dokumentovány a popsány přesnou, byť čtivou formou.

3 Výsledky

Autorka obdržela celou řadu dílčích výsledků (v kapitole patřičně popsáných a dokumentovaných), než se dobrala ke konečnému stanovení fenotypu promotorových variant v *BRCA1* genu. Prezentace dat je velice pečlivá. Diplomantka vypracovala výsledky s velkou pílí, i když se domnívám, že ne vždy veškeré experimenty probíhaly dle předpokladu. O to je pak dosažený objem dat cennější.

4 Diskuse

Diskuse pak svědčí o přehledu autorky v problematice i o odvaze, se kterou se pouští do možných interpretací poměrně velmi složitých problémů funkčních dopadů genových variant (kódujících, v regulačních oblastech) s epigenetickou regulací a možnou epistázou. Diskuse je psána s neobyčejným nadhledem a šíří záběru a je jednou z nejlepších kapitol práce. Ocenil jsem rovněž „Závěr“ jako sumarizační počín práce.

Dle mého názoru je práce vynikající vizitkou pro další působení autorky. Eliška Bubáková prokázala schopnost získat data vynikající úrovně a kriticky je hodnotit.

Dílčí připomínky k práci a otázky do diskuse

K formulaci na str. 9-čím jsou vyvolány sporadické formy nádorů prsu (BC)?

Myslím, že by bylo lepší označit histopatologické formy BC uvozovkami (jsou uvedeny anglickými termíny).

Rovněž se domnívám, že vysvětlení významu grading/staging pro hodnocení nádorů by čtenáři napomohlo k hladkému porozumění.

Centrifugace: “g” není totéž co r.p.m. (které odráží rychlost).

Hypotéza by byla lépe uchopitelná, pakliže by byla formulována jednou údernou větou.

Sekce Výsledky obsahuje některé redundance z Metodiky, což není vždy zapotřebí.

Otázky na autorku: 1. Jsou *BRCA1* varianty predispozicí I u sporadických forem BC?

2. Proč HR převažuje v S a G2 fázi cyklu, zatímco NHEJ v cyklu celém (a je převažující formou DSB opravy)?

3. Proč autorka využívala lidského osteosarkomu a jak je tato relevantní k BC?

4. U řady nádorových onemocnění dochází k delecí 17p12.-13., včetně TP53. Jak by vypadalo v tomto obraze chování *BRCA1*? Odkaz k Diskusi, str. 69.

MUDr. Pavel Vodička, CSc., V Praze dne 08.09.2019