



UNIVERZITA KARLOVA

1. lékařská fakulta

Ústav BIOCEV

Průmyslová 595, 252 50 Vestec, Česká republika

Přednosta: Prof. Tomáš Stopka MD, Ph.D.

Posudek oponenta k disertační práci
Mgr. Jan Švadlenka: Analýza buněčné
signalizace zprostředkované adaptérovým
proteinem Daxx (2016).
školitel: Dr. L. Anděra

VÁŠ DOPIS ZNAČKY/ZE DNE

NAŠE ZNAČKA

VYŘIZUJE/LINKA

DATUM

VĚC: posudek disertační práce Mgr. J. Švadlenky

V rámci doktorského studia v oboru Molekulární a buněčná biologie, genetika a virology je předložena disertační práce s názvem Analýza buněčné signalizace zprostředkované adaptérovým proteinem Daxx (2016) kolegy Mgr. J. Švadlenky z laboratorní skupiny Dr. Anděry. Sestává se ze 165 stran obsahujících úvodní část (43 stran), metodiku (35 stran), výsledky (35 stran), diskusi (6 stran) a závěry; vše ukončeno seznamem použité literatury.

Úvod je přehledný, čtivý, obsahuje všechny náležitosti. Textu by snad prospěla ještě větší grafická podpora podobná obrázkům č. 3 a 4, které jsou ale stále relativně komplikované. Je nejprve představeno, jak je zapojen Daxx v odpovědi na sterové a apoptotické signály v cytoplasmě a dále se autor již věnuje jeho jaderným funkcím v PML tělískách, centromerách s heterochromatinu, ale též v jadérku a Cajalových tělískách.

Výsledky obsahují dva oddíly v nichž autor popisuje svůj zásadní přínos a dále další spolupracující a související projekty. Zaměřuje se především na identifikaci interakčních partnerů Daxx pomocí kvasinkového dvojhybridního systému. Identifikuje 24 proteinů a 7 z nich ověřuje pomocí *in vitro* a *in vivo* validačních postupů. Především se věnuje charakterizaci vazby s SWI/SNF ATPázou Brg1 a dalšími podjednotkami SWI/SNF včetně BAF155. V rámci komplexů SWI/SNF se Daxx nachází spíše ve vysokomolekulárních komplexech >670 kDa. Dále byla interakce Daxx a Brg1 studována konfokální mikroskopií v PML tělískách. Následně nadprodukované části Daxx byly sledovány ve vztahu k interakci s Brg1 a došlo k závěru, že převážná část avšak bez C-konce interaguje s Brg1. Podobně i Brg1 interaguje s Daxx více částmi proteinu. Funkční souvislosti Brg1 a Daxx byly sledovány pomocí expresního čipu s templáty po shRNA-inhibici obou proteinů, avšak ta nevedla ke konklusivnímu výsledku pro Brg1 ale vedla k identifikaci genů regulovaných Daxx. K experimentům byly proto dále využity Brg1-negativní SW13 buňky s titorováním Brg1 pomocí adenoviru. Tyto experimenty ukázaly, že existují Brg1-dependentní geny, které Daxx ko-reguluje. V další části dizertace jsou popsány experimenty sledování Daxx po poškození DNA. V další části je zmíněna účast autora na dalších projektech. Následuje diskuse na 6 stranách, jež je vyvážená, téma rozvíjí a nevede k přehnaným interpretacím.



www:
biocev.lf1.cuni.cz

E-mail:
biocev@lf1.cuni.cz

Tel.:
0420 325 873 031

Otázky oponenta:

1. existují nějaké literární údaje o vazbě Daxx na DNA, například pomocí chromatinové imunoprecipitace (ChIP). Reguluje Daxx cílové geny tím, že ovlivňuje funkci Brg1 na DNA?
2. Brg1 je tumor supresor. Jak lze z tohoto hlediska nahlížet na Daxx? je Daxx mutován u nádorů, například v adtabázi COSMIC (?), existují nádorové situace, kde byla role Daxx v minulosti studována?

Závěr: domnívám se, že disertační práce splňuje všechny náležitosti a že její autor dostatečně uplatnil všechny potřebné dovednosti k tvůrčímu rozvoji vědeckých argumentů a interpretaci výsledků. Vzhledem k tomu, že je práce dostatečně zdokumentovaná po experimentální úrovni, autor prokazuje zdravý odstup k datům, vkládá do nich další rozvíjející prvky, lze hodnotit tuto práci jako zdařilou. Po literární stránce jistě splňující moje představy o struktuře či popsání jednotlivých laboratorních aspektů či dílčích výsledků. Je zjevné, že si autor během PhD studia osvojil řadu laboratorních schopností. Na základě výše zmíněného je moji milou povinností hodnotit tuto disertační práci kladně a doporučit ji k obhajobě s cílem získání titulu PhD za jménem.

S pozdravem,

MUDr. Tomáš Stopka PhD.
Profesor

Biocev, 1.LF UK
tstopka@lf1.cuni.cz