

CHARLES UNIVERSITY



of Natural Sciences

GUE 2, Viničná 5

Department of Genetics and Microbiology

Doc.RNDr.Jitka Forstová,CSc

+420 +2 21951730, fax +420 +2 21951729

E-mail: jitkaf@natur.cuni.cz

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Jana Švadlenky „Analýza buněčné signalizace zprostředkované proteinem Daxx“.

Disertační práce byla vypracovaná v Ústavu genetiky a mikrobiologie AVČR pod vedením Dr. Ladislava Anděry. Zabývá se, jak název naznačuje studiem dalších funkcí multifunkčního adapterového proteinu Death domain –associated protein 6).

Nevím, zdali není snažší vyjmenovat buněčné funkce, ve kterých by protein DAXX angažován nebyl. Tento protein nacházející se jak v buněčném jádře tak, v cytoplasmě původně identifikovaný jako pro-apoptotický protein je zapojen do nejrůznějších buněčných procesů. Interaguje s velkým množstvím buněčných proteinů jako jsou transkripční faktory, proteiny chromatinu, kinázy, membránové receptory a další. Je zapojen v apoptotických procesech a v reakcích buňky na stres, funguje jako represor, ale i aktivátor exprese genů, zasahuje do ubiquitylačních a sumoylační modifikací, účastní se regulace struktury chromatinu, je histonovým chaperonem struktury chromatinu. DAXX je v hojné míře přítomen v jaderných PML tělískách a je zapojen v antivirových buněčných reakcí. Popsána je též např. jeho role v regulaci telomerázy, nebo v inhibici autofagie.

Mgr Švadlenka, kromě účasti na dalších výzkumných projektech laboratoře Dr. Anděry, jako např. studium interkcí proteinu DAXX, p53, ATM kinázy a Wip1 fosfatázy indukovaných poškozením DNA, věnoval velké úsilí nalezení nových, dosud nepopsaných interakcí a funkcí DAXX proteinu. Tento výzkum je stěžejní částí disertační práce. Výsledky vyšly v publikaci Švadlenka et al: Biochemistry and Biophysic report, 2016.

Autor napsal klasickou, nezkrácenou verzi disertační práce , (Celý spis má více než 160 stran). Po abstraktech následuje velmi podrobný 5ti stránkový obsah práce, následovaný 10ti stránkovým seznamem zkratk, který je pro čtenáře nepostradatelný. Práce je sepsána pečlivě.

Kapitola nadepsaná **Úvod** je podrobným literárním přehledm (cca 40 stran), kde se autor zabývá podrobně dosud opublikovanými interakcemi a funkcemi proteinu DAXX. Literární přehled je zdařilý, psaný dobrým jazykem a vybaven kvalitní oibrazovou dokumentací. Obsahuje obrovské množství dobře utříděných literárních informací. Přečetla jsem si jej ráda.

Následuje krátké avšak jasné vymezení **cílů práce**. Kapitola **Metodika** je rovněž zpracována detailně (35 stran), v podstatě formou podrobných návoduů. Toto bude jistě užitečné pro jeho následovníky. Metody zahrnují DNA manipulace, manipulace buněčných linií,

vyhledávání interakcí kvasinkovým dvojhybridovým systémem, “pull down” experimenty, analýza změn genové exprese pomocí DNA čipů ; microarray), imunoprecipitace, konfokální mikroskopie a další).

Kapitola „**Výsledky**“ má dvě hlavní kapitoly. V první jsou podrobně prezentovány výsledky autorovy publikace, zkoumající další, dosud neznámé interakce proteinu Daxx ve druhé kapitole jsou abstrakty dalších dvou publikací s podrobným uvedením podílu autora na jejich výsledcích. Autor odvedl skutečně velké množství experimentální práce. Ne všechny experimenty vedly k úspěchu. Věnoval značné úsilí získání informace o možných funkcích komplexů proteinu Daxx s ATPásou Bgr1, což se ukázalo být velmi obtížným úkolem. Je ke cti autora, že výsledky pečlivě prověřoval a kriticky interpretoval.

Následuje kapitola „Diskuze“ (6 stran), stručný „Závěr“. Kde autor podává v několika bodech nové poznatky získané v průběhu práce. Seznam použité literatury má přes 360 citací.

Připomínky a otázky k diskusi:

Autor by byl ušetřil oponentům hledání, kdyby připojil publikace k disertační práci. Jeho prvoautorskou publikaci nebylo možno najít v databázích.

1, Výsledky celogenomové analýzy nakonec ukázaly na jediný gen, u něhož se reprodukovatelně prokázala regulace exprese jak proteinem Daxx, tak s ním interagující ATPásou - a to gen pro synuclein, alpha interacting protein SNCAIP (mimořádně, chybí v seznamu zkratk). Jaká je funkce tohoto proteinu?

2. Ví se něco o tom, jakými mechanismy je Daxx směřován na virové genomy? Mohou v nich hrát roli DNA sensory?

Disertační práce Mgr. Švadlenky obsahuje řadu původních vědeckých výsledků a je dokladem autorovy experimentální ydstnosti i dobré interpretační práce. Mgr. Švadlenka je prvním autorem 1 publikovaného původního článku, a spoluautorem dalších 3 původních prací. Předložená dizertační práce splňuje všechny požadavky, aby byla přijata jako podklad pro další řízení k udělení doktorského titulu.

V Praze 10. 12. 2016

Jitka Forstová