

## Školitelský posudek diplomové práce Bc. Jarmily Havelkové

### Původ endogenního poškození DNA u neurodegenerativních onemocnění

Předložená diplomová práce přispívá k řešení rozsáhlejšího ERC projektu, který směřuje k objasnění povahy a původu endogenních poškození DNA způsobujících neurodegenerativní onemocnění. Je známo, že mutace v genech faktorů účastnících se oprav jednovláknových zlomů DNA souvisí s cerebrální ataxií, křečovými stavy a záchvaty, spojených s degenerací neuronů. Přesný mechanismus, jakým se tak děje, je však stále neznámý. Naše pozorování naznačují, že jedním z mechanismů degenerace neuronů může být nadměrná aktivace proteinu PARP1, buněčného senzoru jednovláknových zlomů DNA. Hlavním cílem předložené práce bylo změřit hladinu endogenního DNA poškození pomocí aktivity PARP1 a identifikovat původ těchto poškození v buňkách pacientů s autozomálně recesivní spinocerebelární ataxií spojenou s mutacemi v DNA opravném faktoru XRCC1.

Jarmila během své práce potvrdila, že v buňkách izolovaných z XRCC1 mutovaného pacienta se hromadí nejvíce poškození DNA během S fáze buněčného cyklu a že zbytková hladina proteinu XRCC1 je v buňkách pacienta dostatečná k opravě poškození DNA, která vznikají během G1/G2 fáze. Pro další experimenty proto využila připravené buněčné linie, ve kterých byl protein XRCC1 odstraněn kompletně pomocí metody CRISPR/Cas9. Pomocí elegantních přístupů došla k závěru, že nejčastější endogenní jednovláknové zlomy DNA, které nejsou spojeny s replikací DNA a vyskytují se v G1/G2 fázi buněčného cyklu, vznikají během oprav alkylovaných nebo oxidovaných bází DNA. Výsledky práce budou nyní validovány v neuronech izolovaných z myšího modelu onemocnění a publikovány v prestižním mezinárodním časopise.

Laboratorní práci, která vedla k získání zdařilých výsledků, se Jarmila věnovala intenzivně a v laboratoři trávila mnoho času. Velmi rychle si osvojila řadu základních experimentálních technik, které prováděla precizně s použitím potřebných kontrol. Je třeba vyzdvihnout, že Jarmila pracovala samostatně, a vedle kultivace nádorových linií, zvládla velmi náročnou kultivaci a manipulaci s primárními kulturami patientských vzorků, kdy musela mnoho experimentů opakovat, aby získala dostatečné množství buněk potřebné ke statistickému vyhodnocení. Statistická analýza byla pro Jarmilu velmi důležitá, proto věnovala jejímu studiu a samostatnému hodnocení výsledků spoustu času a úsilí, čehož si velmi vážím. Jarmila při sepisování diplomové práce prokázala, že je schopna pracovat s literaturou, že získané výsledky dokáže srozumitelně prezentovat, interpretovat a kriticky zhodnotit. Závěrem mohu říci, že Jarmila se své diplomové práce zhostila se ctí. Předložená práce dle mého názoru splňuje požadavky kladené na magisterskou práci, doporučuji ji proto k obhajobě a hodnotím známkou výborně.

V Praze dne 8. září 2020

Mgr. Hana Hanzlíková, Ph.D.