

Posudek školitele na magisterskou práci Dalibora Miklíka: Funkční analýza genomu pomocí mapování integračních míst podporujících expresi retrovirů v lidských buňkách

Bc. Dalibor Miklík předkládá svoji magisterskou práci založenou na výsledcích svého tříletého pregraduálního pobytu na Ústavu molekulární genetiky v Praze. Jeho magisterské studium navázalo na úspěšně obhájenou bakalářskou práci z r. 2011. Téma magisterské práce bylo v době zadání podloženo pouze našimi prioritními pracemi o celogenomovém mapování retrovirové integrace a dostupností příslušných technik – inverzní PCR a splinkerette PCR. Nyní jsou klonální analýzy integrace retrovirů a epigenetické modifikace chromatinu v místě integrace jedním z hlavních témat naší laboratoře, a to značnou měrou i díky výsledkům práce Dalibora Miklíka.

Podkladem magisterské práce Dalibora Miklíka je analýza retrovirové integrace ve velkém počtu buněčných klonů s definovanou expresí a dlouhodobě sledovanou mírou umlčování reportérových vektorů. Exprese a umlčování provirů jsou cennými funkčními parametry integračního místa, které lze dobře korelovat s genomickými a zejména epigenomickými charakteristikami extrahovanými z databází celogenomových chromatinových imunoprecipitací. Dílčí data tohoto typu, zejména závislost provirové exprese na *de novo* methylaci DNA a trimethylaci H3K4, jsme již publikovali v r. 2011. Data pořizovaná Daliborem Miklíkem jsou mnohem komplexnější díky výběru dobře prostudované buněčné linie K562 odvozené z chronické myeloidní leukemie a díky paralelnímu studiu integrace reportérových vektorů na basi ASLV a HIV-1. Proto jsem si jist, že úplná analýza dostatečně velkého souboru integračních míst poskytne zajímavé a prioritní údaje o retrovirové integraci a genomové struktuře se vztahem ke genové expresi, retrovirové latenci a strategiím genové terapie. Nepochybuji o tom, že data předkládaná v magisterské práci budou základem solidních publikací během navazujícího studia postgraduálního.

Dalibor Miklík si během tří let v naší laboratoři (pod bezprostřední supervisi Dr. Filipa Šenigla) dobře osvojil metody buněčné kultivace, molekulárního klonování, průtokové cytometrie a propagace retrovirů. Nadto zvládnul některé specializované metody a bioinformatické analýzy, z nichž některé sám vyvíjel a optimalisoval. Objemem práce, samostatností a inovativním přístupem k projektu prokázal své zaujetí a talent pro vědeckou práci a mohu jej s klidným svědomím doporučit k obhajobě magisterské práce. Po celou dobu svého dosavadního pobytu na ÚMG byl platným členem našeho kolektivu, patří mezi mé nejlepší magisterské studenty a velmi stojím o jeho další setrvání u nás formou doktorského studia.

Vlastní magisterský spis je přiměřeně obsáhlý a vhodným způsobem představuje dosažené výsledky. Tyto výsledky jsou průběžně doplňovány charakterisací nových integračních míst; předběžným cílem je 50 až 100 jednoznačně určených a popsanych míst integrace v každé kategorii provirů, a to jak pro ASLV, tak pro HIV.

Předkládaná magisterská práce podle mého soudu bohatě splňuje kladené požadavky, doporučuji její výbornou klasifikaci a kladné přijetí jako podkladu pro udělení magisterského titulu.

V Praze, 5. června 2013

RNDr. Jiří Hejnar, CSc., školitel