



Lékařská fakulta
Univerzity Palackého
v Olomouci

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

- Autor:** Mgr. Eva Richtrová
- Název:** Charakterizace promotorových oblastí genů *HGSNAT* a *GBA*, a příspěvek ke studiu patogeneze MPS IIIC a Gaucherovy choroby“.
- Školitel:** MUDr. Martin Hřebíček, Ph.D.
- Oponent:** Prof. RNDr. Tomáš Adam, Ph.D.
Oddělení klinické biochemie a Laboratoř dědičných metabolických poruch
Univerzita Palackého a Fakultní nemocnice v Olomouci

Předložená disertační práce Mgr. Evy Richtrové se zabývá objasněním důvodů pro rozdílné fenotypové projevy pacientů s mukopolysacharidózou IIIC a Gaucherovou chorobou. Autorka se zabývala popisem dosud nepopsaných promotorových oblastí genů pro N-acetyltransferázu a glukocerebrosidázu, jejichž mutace zapříčiňují uvedená onemocnění. Práce je přiměřeného rozsahu, je zpracována přehledně, vhodně členěná a je třeba ocenit písemné vyjadřování autorky. Práce je zpracována na 151 stranách (vč. reprintů) a je členěna obvyklým způsobem. V úvodní části (24 stran) jsou popsány lysosomy, biogeneze endosomálně lysosomálního systému a shrnuty postupy izolace lysosomů a jejich membrán. Dále jsou uvedena studovaná onemocnění, jejich patogeneze a úloha promotorových regulačních oblastí v ní. V dalším oddíle autorka uvádí cíle a výchozí hypotézy.

Ve třetím oddíle jsou popsány použité metody. Je třeba vysoce ocenit, že v průběhu své práce doktorandka používá velice širokou škálu metod a technik molekulárně biologických a biochemických (celkem 15 stran). V části výsledkové jsou postupně zhodnoceny všechny provedené experimenty. Mgr. Richtrová úspěšně potvrdila existenci alternativního promotoru genu pro glukocerebrosidázu a charakterizovala promotorový úsek genu pro N-acetyltransferázu. V další části jsou zhodnoceny experimenty provedené v rámci studia myšního modelu mukopolysacharidózy IIIC a diskutovány mechanismy onemocnění. V poslední části je optimalizována metoda izolace lysosomálních membrán.

V závěru předložené doktorské práce jsou přiloženy *in extenso* 4 vědecké práce, na nichž se doktorandka autorsky podílela (2x prvoautorství, jeden rukopis). Hlavní práce autorky Svobodová E., et al, Glucocerebrosidase gene has an alternative upstream promoter, which has features and expression

characteristic of housekeeping genes byla publikována v časopise Blood Cells Mol Dis s impaktem IF 2,3. Vzhledem k tomu, že publikované práce prošly obvyklým recenzním řízením, nebylo by smysluplné, abych je znovu detailně posuzoval.

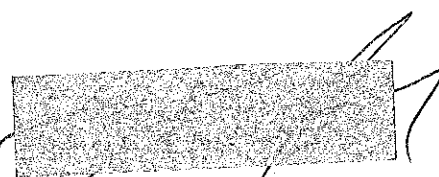
K disertační práci mám tyto připomínky a dotaz:

- 1) V jinak velmi pečlivě zpracované práci jsou z mého pohledu slabším článkem obrázky. Např. obrázek 1.6 je nešikovný a pro čtenáře obtížně použitelný. Srovnej využití prostoru na obr. 4.4 a 4.5 nebo 4.6 – 4.8. Zejména obrázky didaktického charakteru (1.2 – 1.4) by byly ve větším měřítku lepší. Citace v legendě obr. 1.6 se formálně odlišuje.
- 2) Přepis v poslední větě legendy obr. 4.6 a na str. 32 - 3. řádek odspodu „zapomínek“.
- 3) Tabulky v oddíle 6 by měly mít legendy.
- 4) Některé zkratky (např. BRE, PINK1, TFEB) jsou vysvětleny zkratkami (TFIIB, PTEN, EB), jež dále rozklíčovány nejsou. Nejsou si jist, zda je vždy možno je označit za „standardní“.
- 5) Výsledky studií zkoumajících význam změn v promotorových úsecích na fenotyp pacientů jsou negativní. Budou mít přesto dosažená data vliv na diferenciální diagnostiku těchto onemocnění?

Závěrem konstatuji, že autorka předložené doktorské práce prokázala schopnost získat a zpracovat experimentální materiál. Předložená doktorská práce ukazuje na rozsáhlé znalosti laboratorních metod. Text je zpracován s potřebnou kompetencí a kritickým nadhledem.

Na základě výše uvedených skutečností doporučuji, aby byla práce přijata k obhajobě a na základě úspěšné obhajoby udělen Mgr. Evě Richtrové akademický titul „doktor“ (ve zkratce Ph.D.) dle §47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

V Olomouci, dne 27. 5. 2014



Prof. RNDr. Tomáš Adam, PhD.

Oddělení klinické biochemie a Laboratoř dědičných metabolických poruch

Univerzita Palackého a Fakultní nemocnice v Olomouci