

Ústav nanobiologie a strukturní biologie AV ČR, v.v.i.

pracoviště Nové Hrady

Zámek 136, 373 33 Nové Hrady

Oponentský posudek na doktorskou práci RNDr. Kamily Burdové s názvem „Studium molekulárních mechanismů udržujících stabilitu genomu“.

Tato doktorská práce se zabývá důležitým tématem DNA opravných systémů v savčích buňkách. Práce je zaměřená na studium faktorů potřebných pro velice komplikovaný proces regulace jednotlivých drah opravy DNA. Konkrétně je rozdělena na čtyři hlavní cíle. Prvním cílem je objasnění úlohy WRN helikasy v opravném mechanismu DNA poškozené oxidativním stresem. Druhým cílem je identifikace lidských helikas, které regulují SDSA dráhu procesu homologní rekombinace, která je jedním z mechanismů opravy DNA zlomů. Třetím cílem je vysvětlit proces resekce DNA konců při homologní rekombinaci v lidských buňkách. Čtvrtým cílem je objasnění funkce „mismatch“ rozpoznávacího proteinového komplexu MSH2/MSH3 při opravě dvouvláknových DNA zlomů.

Práce je prezentována formou čtyř vědeckých článků, které odpovídají jednotlivým cílům. Tři z těchto článků jsou již publikovány v prestižních mezinárodních časopisech, a poslední je submitován. Práce je metodicky bohatá a prezentuje původní výsledky vysoké úrovně, o čemž svědčí impakt faktory časopisů: 8,8; 4,651 a 14, 465.

Dle názoru oponenta studentka svou práci dokazuje vynikající znalostí dané problematiky. Prezentované výsledky ukazují, že se dobře orientuje v oborech biochemie, molekulární a buněčné biologie, a že dokáže správně interpretovat výsledky. V neposlední řadě vykazovala schopnost svoje výsledky publikovat, což svědčí o kvalitách nejen studenta, ale především školitele. Proto má studentka velkou šanci uspět jako samostatný vědecký pracovník.

Práci bez výhrad doporučuji k obhajobě.

Níže uvedené otázky do diskuze nijak nezpochybňují vysokou úroveň práce.

Otázky do diskuze:

1. Ve své práci se zabýváte funkcí WRN helikasy při oxidativním stresu a v procesu 5'-3' resekce DNA konců při homologní rekombinaci. V prvním případě má WRN protein stimulační funkci, v druhém se chová jako helikasa. Je známo, v jakém procesu využívá svou exonukleasovou aktivitu?

Ústav nanobiologie a strukturní biologie AV ČR, v.v.i.

pracoviště Nové Hradý

Zámek 136, 373 33 Nové Hradý

2. Jak si vysvětlujete rozdíl v chování BLM helikasy v HEK293 a U2OS buněčných liniích? V diskuzi Vaší práce uvádíte hypotézu, že vysoká exprese BLM v HEK293 způsobuje inhibiční efekt BTRR komplexu na SSA. Máte tuto hypotézu ověřenou i na jiných buněčných liniích?
3. Navrhujete, že MSH2/MSH3 komplex se váže na DNA vlásenky, které se tvoří po resekci dvouvláknových DNA zlomů. Jednořetězcová DNA vznikající při resekci DNA zlomů je však okamžitě pokryta replikačním proteinem A, což by mělo zabránit tvorbě DNA vlásenek. Můžete blíže vysvětlit vaší hypotézu?

Ing. Eva Cséfalvay, Ph.D.

V Nových Hradech dne 10.11. 2014

