

OPONENTSKÝ POSUDEK DOKTORSKÉ DIZERTAČNÍ PRÁCE

Disertační práce RNDr. Kamily Burdové s názvem "Molecular mechanisms underlying maintenance of genome stability" je primárně rozdělena do dvou částí. První zahrnuje úvod do problematiky poškození DNA a stručně popisuje jednotlivé DNA opravné mechanismy. Druhou část představují výsledky, které jsou kompilací tří již přijatých a jednoho submitovaného manuskriptu. První dva články jsou zaměřeny na úlohu WRN helicázy při stimulaci opravy 8-oxo poškození a úlohy RecQ5 v SDSA dráze opravy DSB. Vzhledem k tomu, že role autorky se v těchto pracích soustředila na provedení specifických analýz, doporučil bych se primárně zaměřit spíše na dva články, u kterých je prvo- nebo společnou prvoautorkou (tedy třetí a čtvrtý). Třetí publikace popisuje identifikaci interakce mezi WRN a DNA2 proteiny a charakterizuje jejich úlohu během resekce zlomů v DNA v modelových lidských buněčných liniích. Tato práce dále porovnává kooperaci DNA2 s dalším členem rodiny RecQ helicáz, BLM proteinem, a představuje mechanistický náhled do procesu zpracování konců dvouřetězcových zlomů. Ačkoliv chápu, že teprve submitovaná práce byla zařazena až na čtvrté místo, představuje podle mého názoru tato publikace stěžejní práci této disertace a zabývá se úlohou faktoru MutSB při aktivaci buněčné odpovědi na zlomy v DNA. Práce se zakládá na detailní analýze lokalizace MSH2 proteinu na místo poškozené DNA a dokazuje, že jeho lokalizace je závislá na počáteční resekcí zlomu v DNA a ovlivňuje spuštění signální dráhy pro DNA poškození. Tato signalizace je zprostředkována přímou interakcí MSH2-MSH3 komplexu s proteinem RPA navázaným na ssDNA a následná nasednutí ATR-ATRIP komplexu vede k jeho aktivaci. Tato data představují zcela nový náhled na počáteční signál a jeho indukci během opravy DSB zlomů.

Dotazy a komentáře:

- Jak dochází k rozpoznání poškozeného od nepoškozeného řetězce v případě „Mismatch Repair“?
- V případě BER by měla být zmíněna specifita jednotlivých glycosyláz k různým typům poškození.
- Rozdíl mezi NHEJ a HR je primárně ve velikosti resekce DSB. Mezi alternativními drahami opravy DSB by měla být uvedena i BIR. Může autorka tuto dráhu popsat během obhajoby?
- Mezi funkčními Srs2 orthology by měl být zařazen PARI protein.
- Obr.5D znázorňuje schopnost MSH2-MSH3 zvýšit vazbu ATRIP k RPA-ssDNA komplexu a naznačuje, že MSH2-MSH3 rozpoznává vlásenkové struktury na ssDNA. Nicméně, RPA je spíše chápán jako ssDNA vazebný protein, který odstraňuje sekundární struktury. Jaké jsou důkazy, že tyto struktury v ssDNA jsou stabilní i po vazbě RPA? Jak by se to dalo testovat? Nemůže MSH2-MSH3 interagovat na rozhraní RPA-ssDNA komplexu, které může být narušeno ve vazbě na poly dT oligonukleotid?

Celkově hodnotím práci Mgr. Kamily Burdové velmi vysoce. Práce splňuje všechny požadované předpoklady doktorské disertační práce o doktorském studiu, a proto po úspěšné obhajobě navrhuji udělení akademického titulu PhD v oboru biochemie.

V Brně, 11. 11. 2014

doc. Mgr. Lumír Krejčí, PhD

MASARYKOVA UNIVERZITA
Lékařská fakulta
625 00 Brno, Kamenice 5
125