



Oponentský posudek kandidátské disertační práce Mgr. Jana Bražiny *Posttranslační modifikace adaptorového proteinu DAXX v buněčné odpovědi na genotoxický stres.*

Disertační práce Mgr. Bražiny byla vypracována na Ústavu molekulární genetiky AV ČR, Oddělení buněčné signalizace a apoptózy pod vedením RNDr. Ladislava Anděry, CSc. Vlastní disertační práce je pojata klasicky a zahrnuje zásadní kapitoly (Souhrn, Teoretický úvod, Cíle práce, Použitý materiál a metodika, Výsledky, Diskuse a Závěry) na 74 stranách. Dizertační práce je předestřena svižným jazykem, text je ve své převážné většině čtivý a vlastní práce dokáže čtenáře zaujmout. Dizertační práce je opřena o 184 citací prací vesměs velmi relevantních a moderních, což jednak autorovi poskytuje nezbytný přehled o studované problematice, jednak umožnilo klást naprosto nové a originální otázky. Text disertační práce je průběžně ožívován náležitou obrazovou dokumentací a tabulkami. Rád bych vyzdvihl jasnost Úvodu, pěknou a logickou následnost výsledkové části jakož i svižnost a věcnost Diskuse. Rovněž, a to mnohdy nebývá samozřejmostí, nalézám velmi jasnou vztah mezi jednoznačně stanovenými **cíly** a vyvozenými **závěry**. Námětem práce jsou pak posttranslační modifikace adaptorového proteinu DAXX v souvislosti s buněčnou odpovědí na poškození DNA a genotoxický stres. Předkládaná dizertační práce je bezesporu velmi kvalitní a poskytuje řadu nových poznatků v mechanismech buněčných odpovědí na genotoxický stres vyvolaný jak zářením, tak chemickými agens.

Nepominutelnou součástí disertační práce bývá seznam publikací, jež v rámci řešení dané problematiky vznikly. Žel, tyto publikace k dizertační práci přiloženy nebyly, což považuji asi za nejzávažnější formální nedostatek. Je to škoda, neboť bezesporu kvalitní výsledky, obdržné na základě velmi erudovaného přístupu, byly publikovány v časopisech s velmi solidním IF (Cell Cycle, kde je autor dizertace prvním autorem, a Biochemistry and Biophysics Report, autor dizertace je zde druhým autorem).

K dizertační práci bych měl několik připomínek a otázek: 1. Mohly být (velmi stručně) uvedeny zdroje endogenních látek, poškozujících DNA. 2. Kapitola 2.1 mohla být podepřena citací relevantního souborného článku. 3. Je správné tvrzení, že inkorporovaný 5-FU brání dokončení opravy DNA mechanismem NER? Není zde aktivní spíše BER? 4. Příliš se mi nezamlouvá formulace ...z fyzikálních agens se pro poškození DNA nejčastěji používá... DNA je *in vivo* poškozována těmito agens nezávisle na naší vůli. 5: Expozice H₂O₂ skutečně nevede k tvorbě DSB? Řada souborných článků uvádí vyšší hladiny mikrojaderných či chromozomových aberací v souvislosti s ROS. 6: Co vedlo autora k výběru uvedených buněčných linií? 7: Je absence DAXX fosforylace skutečně nezávislá na dávce HU? 8: Jaké bylo kritérium pro výběr 9 genů ke stanovení transkripce? Tabulka 6 byla dodatečně autorem disertační práce opravena a předložena oponentovi.

Práci se bohužel nevyhnuly formální nepřesnosti a jazykové nedůslednosti. Autorovi bych doporučil používat české formy citace literatury (např. popsáno Tangem a kol.) namísto formy anglické bez zkloňování; práce je vypracována v českém jazyce. K dalším formálním pochybením patří: str. 8 ...se na této fosforylaci (namísto na této fosforylace). Str. 19: ...senescence, opravy DNA či regulace. Str. 20: Pakliže. Str. 33: Klinická studie z roku 2014 analyzovala nádory pnaNET ze souboru 400 pacientů. Str. 33: Věta ...Zajímavostí je, že ze



**Ústav
experimentální
medicíny AV ČR, v.v.i.**

EU Centre of Excellence

stejného vzorku... není zcela zřejmě srozumitelná. Str. 60: Vzhledem ke skutečnosti (namísto k faktu). Str. 68: ...u neblokových zlomů (způsobených...). Str. 68: ...omezení ovlivněné... Str. 71: Je správné tvrzení ...DAXX neočekávaně zvyšuje hladinu mRNA proteinu PUMA... Str. 73: ...V přítomnosti reziduálního proteinu.

K autorovi disertační práce bych vznesl následující dotazy obecnějšího charakteru:

O1: Jaké jsou mechanismy chromozomální nestability?

O2: Jakou relevanci v DDR mají abázická místa, vznikající spontánní depurinací/depyrimidinací?

Kritické čtení disertační práce Mgr. Bražiny bylo pro mne inspirující zkušeností a poučením o mechanistických aspektech posttranslační modifikace adaptorového proteinu DAXX v souvislosti s buněčnou odpovědí na poškození DNA a genotoxický stres.

Nespornou kvalitu disertační práce nikterak neumenšují drobné nedostatky, především ve formálních aspektech, z nichž nejzávažnějším bylo opomenutí odkazů na vlastní publikované práce. Autoru disertační práce bych pak rád popřál úspěšné pokračování jeho kariéry.

Ve smyslu §47 VŠ zákona 111/98 Sb. doktorand prokázal tvůrčí schopnosti a práce není v rozporu s požadavky kladenými na disertační práce v daném oboru. Proto doporučuji udělení titulu PhD.

V Praze dne 25. srpna 2016

MUDr. Pavel Vodička, CSc.