

Posudek na doktorandskou dizertační práci Mgr. Hany Huškové v rámci doktorského studijního programu Biomedicína a oboru Fyziologie a patofyziologie člověka

Předkládaná disertační práce se využívá metod sekvenování nové generace pro analýzu spektra mutací indukovaných působením různých mutagenů v myších embryonálních fibroblastech. Pomocí celo-exomového sekvenování a následné bioinformatické analýzy byly sestaveny mutační mapy v 25 imortalizovaných MEF liniích a byly porovnány s databázemi obsahující data z lidských nádorů. Kromě známých mutací v *Tp53* a onkogenech *Hras* a *Kras* byly v imortalizovaných MEF liniích nalezeny další kandidátní mutace, které splňují předpokládaný vzorec pro tzv. driver mutace. Funkčně byl ověřen význam mutací BAF komplexu, které zvýšily citlivost buněk k inhibici PRC2/EZH2. Prvoautorská publikace, která je předmětem této práce, úspěšně prošla recenzním řízením a byla přijata do tisku v časopise *Oncogene*, což svědčí o vysoké kvalitě předkládaných dat. Další práce, na které je Mgr. Hušková spoluautorkou byla otištěna v časopise *Scientific Report*.

Práce splňuje formální náležitosti disertační práce jak svým rozsahem, tak i po obsahové stránce, kapitoly jsou logicky členěny a doplněny názornými ilustracemi. Práce je psaná velmi dobrou angličtinou a sestává se ze stručného úvodu (18 stran), popisu použitých metod (15 stran), výsledků a diskuze (40+5 stran) a přibližně 160 literárních odkazů. Práce je dále rozšířena o datový disk obsahující soubory s popsányými mutačními mapami. Metodická část je popsána vcelku podrobně, přesto však některé důležité údaje chybí. Není například jasné, jak přesně byly generovány imortalizované MEF linie (dávky mutagenů a délka jejich působení). Pravděpodobně byly tyto linie vytvořeny na spolupracujícím pracovišti, nicméně způsob jejich přípravy by v této práci měl být podrobně uveden. Rovněž bych uvítal širší popis složení a funkce BAF a PRC2 komplexů v úvodu práce. Z formálního hlediska lze rovněž vytknout nesprávně uvedený název univerzity, která ač stále v Praze, se již nejmenuje Univerzita Karlova v Praze.

Doplňující dotazy na autorku:

1. Proč byly ve studii použity Hupki MEF buňky a preferenčně sekvenovány linie s mutací v *Tp53*?
2. Máte vysvětlení pro zvýšený signál pERK1/2 v přítomnosti inhibitoru U0126 v čase 24-48 hodin (obrázek 19B)?
3. Inhibice MEK1 a EZH2 snižuje proliferaci plně imortalizovaných MEF linií (obrázek 19 a 20), což prokazuje, že tyto signální dráhy jsou důležité i po dokončení procesu imortalizace, nicméně o úloze aktivity těchto drah v průběhu imortalizace to mnoho nevyovídá. Lze v MEF buňkách nějakým způsobem lépe testovat kandidátní driver mutace?

Závěr:

Disertační práce Mgr. Hany Huškové splňuje formální náležitosti a obsahuje řadu originálních dat přispívajících k porozumění mechanismů onkogeneze. Práci doporučuji k obhajobě s následným udělením titulu Ph.D. za jménem.