

Peter Dráber, Ph.D.

Ústav molekulární genetiky AV ČR, v. v. i.

Vídeňská 1083

142 20 Praha 4

peter.draber@img.cas.cz**Oponentský posudek disertační práce Mgr. Tomáše Zikmunda nazvané “Epigenetické aspekty normální a nádorové krvetvorby: role chromatin remodelační ISWI ATPázy.”**

Základem předkládané disertační práce jsou čtyři publikace v mezinárodních časopisech, z nichž tři se zabývají studiem proteinu z rodiny ISWI ATPáz nazvaném SMARCA5. Tento protein má za úkol remodelaci chromatinu a tím zásadním způsobem ovlivňuje genovou transkripci, podílí se na replikaci a rovněž opravě genomové DNA. V této práci byly analyzovány myší modely, ve kterých byl SMARCA5 odstraněn v hematopoetických buňkách (publikováno v Stem Cell, 2017) nebo ve vyvíjejících se T a B buňkách (publikováno v The Journal of Immunology, 2019). U obou těchto modelů vedlo odstranění SMARCA5 k drastickým efektům na vývojové programy buněk a tato práce odkrývá zásadní roli SMARCA5 v krvetvorbě. Třetí publikace (PlosOne, 2014) dokumentuje roli SMARCA5 v regulaci nádorové hematopoéze a ukazuje, že studovaná témata má potenciální přesah do oblasti nádorového výzkumu a možnosti modulace diferenciací některých leukémii. Čtvrtá publikace (Haematologica, 2017) se věnuje vzdálenějšímu, ale přesto velmi zajímavému studiu role maturovaných B buněčných nádorů na hematopoézu. Celkově tyto články pokrývají důležité vědní pole modulace chromatinu a leukemického výzkumu a významným způsobem prohlubují současné poznání v této oblasti.

Samotná předkládaná práce se skládá z literárního úvodu, ve kterém je nejprve diskutován význam chromatinové remodelace se zaměřením na roli proteinů z rodiny ISWI, kam spadá i SMARCA5. Následně tato práce dokumentuje roli těchto proteinů v regulaci transkripce, replikace a opravy DNA a jejich zásadní vliv na vývoj tkání. Závěrem se úvod zabývá krvetvorbou a popisuje roli těchto proteinů v některých nádorech. Tento literární úvod je psán čtivě, drží se tématu bez zbytečných odboček a jasně ukazuje hluboké porozumění autora studované problematice. Posléze je uveden přehled cílů a shrnutí publikací, na nichž se autor této práce podílel, včetně korektně uvedeného podílu na jednotlivých článcích. Následuje diskuze, kdy jsou adekvátně komentována získaná data a výsledky jsou interpretovány z pohledu současného poznání v této oblasti, jsou porovnány různé myší modely

a je diskutována potenciální možnost použití inhibitoru SMARCA5 v nádorové léčbě. Práce je ukončena závěrem a obsáhlým přehledem použité literatury a nakonec jsou přidány všechny čtyři publikace, na kterých je tato disertační práce vystavěna, z nichž na článku publikovaném v The Journal of Immunology je uchazeč prvním autorem. Z metodického hlediska je práce uchazeče jednoznačně kvalitní, je zjevné, že zvládl velmi dobře imunologické metody pro analýzu myších modelů a rovněž dokázal využít některé moderní přístupy jako například analýzu pomocí RNA sekvenování. Metody jsou popsány v článcích ve standardní publikační kvalitě.

Z předkládané práce je zřejmé, že uchazeč má velmi detailní znalosti o studovaném problému a je schopen plánovat a provádět experimenty, které vedou k publikacím v kvalitních mezinárodních časopisech. Jsem tedy přesvědčen, že předkládaná disertační práce jednoznačně prokazuje předpoklady autora k samostatné vědecké práci a opravňuje jej k získání titulu Ph.D.

K předkládané práci mám následující otázky:

1. Je možné u buněk s deficiencí SMARCA5 detekovat výrazně zvýšené poškození DNA?
2. Ačkoliv deficiencie v SMARCA5 v T buňkách vede k velmi silnému bloku buněčného vývoje v DN4 stádiu, určité množství buněk projde thymickou selekcí a jsou detekovatelné v periferních imunitních orgánech. Jsou tyto buňky skutečně deficientní v SMARCA5? Pokud ano, měl autor možnost charakterizovat tyto buňky, například z hlediska jejich fenotypu, autoreaktivity či odpovědi na antigen?
3. Stejně tak je patrný velmi silný blok ve vývinu SMARCA5-deficientních B buněk, ale některým buňkám se přesto podaří maturovat a lokalizovat do sleziny. Mají tyto buňky B buněčný receptor a jsou schopny přes něj signalizovat?
4. Vyvinou si tyto myši symptomy autoimunitního onemocnění během stárnutí?
5. Může blízký příbuzný protein SMARCA1 alespoň do určité míry kompenzovat deficienci SMARCA5?

V Praze, 9.9.2019

Peter Dráber, PhD

