

Oponentský posudek disertační práce

Název práce:

Zvýšená produkce mRNA dioxygenázy TET1, nízká hladina metylace DNA a změny exprese lidského endogenního retroviru ERVWE1 v nádorech zárodečných buněk (TET1 overexpression, DNA hypomethylation and aberrant expression of human endogenous retrovirus ERVWE1 in germ cell tumors)

Autor práce: Mgr. Martina Benešová

Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta

Ústav molekulární genetiky AV ČR, Laboratoř virové a buněčné genetiky

Cílem disertační práce bylo charakterizovat specifické epigenetické vlastnosti nádorů mužských zárodečných buněk. V nediferencovaných seminomech autorka popsala zvýšenou hladinu mRNA TET1 dioxygenázy. Pozorovaná nízká celková hladina 5mC v seminomech se odrážela i v nízké hladině metylace DNA promotorové oblasti ERVWE1, kde byla jedním z faktorů, které umožňují intenzivní transkripci lidského endogenního retroviru ERVWE1.

Výstupem této disertační práce jsou 2 původní publikace a u obou je Mgr. Benešová uvedena jako první autor. První vyšla v *Molecular Carcinogenesis* s impakt faktorem IF 3,411 a druhá v *Retrovirology* s impakt faktorem IF 3,417. Obě byly již několikrát citovány.

Dále na konferenci Stem Cell Epigenetics (Sitges, Španělsko), prezentovala poster: Overexpression of TET1 dioxygenase in seminomas.

Samotná práce je rozdělena do devíti kapitol: 1. Úvod, 2. Cíle disertační práce, 3. Literární přehled, 4. Materiál a Metody, 5. Výsledky, 6. Diskuze, 7. Souhrn, 8. Závěr, 9. Seznam použité literatury (254). Kapitolám předchází Prohlášení, Poděkování a grantová podpora, Abstrakt + klíčová slova (anglicky i česky), Obsah a Seznam použitých zkratk.

Disertační práce obsahuje všechny náležitosti. Nejsou v ní zásadní formální chyby. Je napsaná čtivým stylem. Teoretická část se logicky rozvíjí od obecného úvodu popisujícího základní problematiku výzkumu, přes cíle disertace a je rozprostřena především do literárního přehledu, který pojednává o 1) DNA metylaci, 2) testikulárních nádorech zárodečných buněk a 3) lidských endogenních retrovirech. Četné obrázky (57) i tabulky (6) vhodným způsobem dokumentují celou práci.

Předložená disertační práce se zabývá velice aktuálním tématem: epigenetickými změnami v nádorech vyvolaných expresí lidských endogenních retrovirů. Má vysokou odbornou kvalitu a precizní provedení. Její poznatky významným způsobem přispívají k objasnění evolučních molekulárních mechanismů savců a aktivace endogenních retrovirů v lidském organismu. Současně nabízí možnosti lepší klinické klasifikace a následné terapie nádorů zárodečných buněk.

Dotazy a připomínky k disertační práci:

Práce je psána srozumitelně. Výstupy a jejich uplatnění v praxi jsou jasně formulovány. Nemám zásadních připomínek. Mám několik spíše doplňujících dotazů:

- 1) V Literárním přehledu na straně 17 uvádíte, že placentární savci (eutheria) mají inaktivaci jednoho ze dvou X chromozomů. A jak je tomu u dalších druhů savců jako jsou vačnatci (metatheria) a vejcorodí (prototheria)? Obdobně můžete porovnat imprinting mezi těmito skupinami savců?
- 2) V Literárním přehledu na straně 32 zmiňujete miR-371a-3p jako další možný marker nádorů zárodečných buněk. Časný neinvazivní skríníng molekulárních biomarkerů je považován za perspektivní metodologii, která by mohla nahradit skríníngy invazivní a vedla by k časnému záchytu závažného onemocnění ještě v jeho preklinické fázi. Pravděpodobně nebude zahrnovat jeden marker, ale bude se jednat o kompletní sadu markerů, testovaných v lehce dostupné tekutině (moč, periferní krev, ...). Podle Vás, které markery a kde by se analyzovaly pro skríníng u nádorů zárodečných buněk?
- 3) V Literárním přehledu na straně 48 v textu popisujete „full-length“ nesestřížený transkript s délkou 8.0 kb, ale v Obrázku 15 je vyznačena délka 9.6 kb. Můžete to uvést na pravou míru?
- 4) Ve Výsledcích v první části zabývající se expresí TET dioxygenáz ve vztahu k úrovni DNA metylace a hydroxymetylce analyzujete paralelní měření exprese TET1, na úrovni mRNA a proteinu, a dále paralelní měření množství 5-hydroxymethylcytosinu, jednak pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem (LC/MS) a jednak pomocí imunohistochemie (IHC). Paralelní výsledky nejsou zcela shodné. Můžete se k tomu vyjádřit, zmínit Váš názor na pozorovanou diskrepanci a zhodnotit pozitiva a negativa jednotlivých metod?
- 5) V souhrnu na straně 133 uzavíráte, že navrhuje zařadit seminomy mezi tumory s „antimetylátorovým“ fenotypem. Jaké další nádory byste zařadila do této skupiny a jaké nádory byste zařadila do skupiny tumorů s „metylátorovým“ fenotypem?

Závěr: Disertace je prezentována dvěma původními prvoautorskými pracemi s faktory impaktu IF 3,411 a 3,417. Disertační práce jednoznačně prokazuje předpoklady autora k samostatné tvořivé vědecké práci, a proto doporučuji udělení titulu „Ph.D.“.

Posudek vypracován: 7. 1. 2020

Prof. MUDr. Marie Černá, DrSc.
Ústav lékařské genetiky
3. LF UK