

## Posudek na dizertační práci Mgr. Soni Pecháčkové

### Potenciální využití WIP1 fosfatázy v terapii nádorového onemocnění prsu

Předkládaná dizertační práce se zabývá studiem mechanismu působení proteinu Wip1 s fosfatázovou aktivitou. Hlavním motivem studia je důkladné hodnocení možností využití inhibitorů Wip1 v cílené protinádorové terapii. Mutační analýza nádorových buněčných linií i pacientů představuje další originální cíl projektu, který přináší zásadní poznatky pro další směřování výzkumu v oblasti molekulární onkologie. Vědecky se tato práce zabývá velmi závažnou problematikou a lze tedy konstatovat, že téma dizertační práce bylo zvoleno vhodně a v souladu s nároky kladenými na doktorské studium. Jazykem hlavní práce je angličtina.

#### Hlavní pozitiva dizertační práce

Přehled literatury na patnácti stránkách, bohatě doprovázených obrázky a jednou tabulkou, uvádí čtenáře do studované problematiky. Tento přehled působí konsistentně bez zbytečných podrobností a přitom nic podstatného není vynecháno.

Cíle práce jsou jasně stanovené, vyplývají z informací podaných v úvodu, a celkový postup je v souladu s moderními trendy výzkumu u nás i ve světě. Orientace na studium mutací funkčně zajímavých kandidátních genů představuje velmi důležitý příspěvek k dalšímu rozvoji cílené terapie a personalizované medicíny.

Výsledkovou část představují především práce, se stručnou předmluvou, publikované týmem doktorandky, z nichž na jedné práci je hlavní autorkou a na dalších dvou spoluautorkou. Dále je uveden přehledný článek v přijímacím řízení. Metodicky jsou všechny práce na vysoké úrovni a výsledky studia značně rozšiřují oblast poznání či přináší zcela unikátní zjištění v oboru.

Následuje část s diskuzí, která srozumitelnou formou shrnuje a komentuje dosažené výsledky. Interpretace výsledků odpovídá naměřeným datům. Autorka správně vyzdvihuje zásadní zjištění, která vyplývají z řady různorodých experimentů, které se navzájem podporují a tvoří velmi kompaktní celek.

V další kapitole, pro mne trochu nelogicky, následuje *in extenso* popis práce a výsledků heterologní exprese a pokusů o krystalizaci Wip1. Tuto kapitolu bych asi zařadil spíše za publikované práce a poté diskutoval společně s těmito pracemi.

Závěry odpovídají dosaženým výsledkům. Mezi hlavní a originální výsledky patří:

- 1/ detailní popis mechanismu působení Wip1 včetně úlohy posttranslační regulace jeho stability/aktivity a důsledků pro buněčný cyklus i samotné dělení buněk.
- 2/ Nález mutací *PPM1D* v zárodečné DNA pacientů s karcinomem prsu a tlustého střeva a konečníku, které působí zkrácení C-koncové oblasti proteinu a tím prodlužují jeho poločas i aktivitu.
- 3/ Demonstrace aktivity inhibitoru GSK2830371 vůči Wip1 a zejména odhalení synergického působení látek poškozujících DNA a inhibitoru Mdm2 v buňkách s funkčním p53 *in vitro*. Tento aspekt, zejména v kontextu s mutacemi ve *PPM1D*, je zcela zásadním zjištěním pro budoucí cílenou terapii.

Tři publikace v časopisech s impaktem mezi 5-10 jsou jasným důkazem, že doktorská práce Mgr. Pecháčkové je velmi kvalitní a zasluhuje vysokého uznání.

Autoreferát, na 21 stranách, splňuje požadavky kladené na tuto formu výstupu.

### Komentáře a otázky k vlastní práci

Vysokou vědeckou úroveň práce bohužel trochu sráží slabší úroveň anglicky psaného textu. Téměř v každé větě je nějaký překlep nebo nesoulad díky vynechání předložky, špatnému použití množného čísla, nebo použití nestandardního výrazu, slovosledu či gramatiky. Chyby se opakují a jsou přítomny i v nadpisech kapitol nebo v legendách k tabulkám či obrázkům. Pro ilustraci uvádím níže některé příklady překlepů, nejasností či nestandardních formulací.

- str. 15, první věta po nadpisu: „When the DNA lesions are successful repaired, cells re-enter to the proliferation ...“
- str. 17, uprostřed: „This underlying that PP2A can function as positive as well as negative ...“
- legenda k obr. 4: „Besides phosphatases, the termination of DNA damage-induced checkpoints is contributed by corresponding enzymes to remove other PTMs ...“
- str. 19, druhý odstavec zhora: „WIP1 is important to regulate of cell cycle progression after DNA damage that was properly repaired. In the following section will discuss how WIP1 participate in checkpoint recovery pathway.“
- str. 21: šestý řádek zdola: MDM2 suppress p53 transcriptional activity and trigger p53 to proteasomal degradation“
- str. 26, devátý řádek shora: „Until now the structure of WIP1 has not been determined but several models of WIP1 (Figure 7) was structured based on protein homology with PP2C phosphatases ...“

Další drobné formální připomínky:

Obrázek 3b: jednak je nepřiliš čitelný, zejména popis barevného rozlišení funkčních domén, navíc zde vidím 2x popsany gen PPM1M, jehož schéma se však strukturně liší – zřejmě přepis.

Obrázek 7: sice si myslím, že struktura vpravo nahoře pravděpodobně představuje inhibitor Wip1, ale nevím jaký a zda je to pravda, protože v legendě to zmíněno není.

Obrázek 19: není uveden význam červené šipky na situaci po 27 dnech.

Všechny práce přiložené k dizertaci byly recenzovány renomovanými odborníky, tudíž následující dotazy slouží spíše k podpoření diskuze a k širšímu náhledu do uvedené problematiky.

1/ Dle obr. 4 a tabulky 1 i vlastních výsledků autorky lze říci, že Wip1 je ve své aktivitě promiskuitní, tedy defosforyluje široké spektrum proteinů s odlišnými funkcemi. Je známo v literatuře nebo z autorčiných dat, zda je schopen i autodefosforylace?

2/ Zajímá by mne názor autorky na to, zda je pro nádorový proces důležitější spíše načasování nebo kvalitativní/kvantitativní aspekt funkce Wip1. Jaká je úloha epigenetických faktorů, např.: microRNA či methylace regulačních oblastí?

3/ Zaujal mne nález specifických funkčně významných mutací *PPM1D* v zárodečné DNA a náznak jejich významu v karcinogenezi. Vzhledem k tomu, že byly nalezeny v heterozygotní formě, existují příklady alterací, případně epigenetické deregulace, i druhé alely v cílové tkáni?

**Dizertační práce, dle mého názoru, splnila svůj účel, protože autorka prokázala schopnost samostatné vědecké práce. Výsledky byly publikovány ve velmi kvalitních odborných časopisech a významně rozšiřují oblast poznání. Z těchto důvodů doporučuji předloženou práci k obhajobě.**

V Praze 21. dubna 2017

  
Doc. RNDr. Pavel Souček, CSc.