

září 5, 2023

**Oponentský posudek disertační práce**  
**Mgr. Jana Jedličková:**  
**“Vrozené vady čočky a předního segmentu oka”**

Hlavním cílem této disertační práce je molekulárně genetická analýza 51 pacientů z 23 rodin s kataraktami a dysgenezemi předního segmentu oka využitím jak řady moderních, tak i konvenčních metod, zahrnující sekvenování DNA metodou nové generace (NGS), přímé sekvenování, bioinformatika a modelování a funkční analýzy včetně sestřihových vektorů. Genetická onemocnění oka jsou poměrně vzácná a zahrnují několik stovek genů a další desítky až stovky dosud neznámých genů a nekódujících RNA (napr. microRNA a lncRNA). Jeden z hlavních důležitých aspektů tohoto oboru je jak objevení/potvrzení známých mutací tak identifikace nových mutací, kde je dále zapotřebí generovat experimentální data, že se jedná skutečně o patogenní mutace. Celková produktivita vedla k odhalení nových a potvrzení známých mutací; jedná se celkový počet 24 kauzálních variant v kódujících, nekódujících i regulačních oblastech genů. Hlavní objevy se týkají genů kódujících DNA-vazebné transkripční faktory PAX6, FOXC1, PITX2 a FOXE3, protein vázající železo FTL (5'-UTR oblast, gen: ferritin light chain) a CHRDL1 (chordin like 1; regulator/antagonista signálního růstového faktoru BMP4). Výsledky rovněž potvrdily patogenní mutaci n.37C>T v *MIR204* lokalizované v intronu genu TRPM3.

Celková produktivita Jany Jedličkové zahrnuje 3 prvoautorské publikace (2x 2020, 2023) a 4 spolupráce (2021 a 3x 2022) uvedené v hodnocené práci plus čerstvá spoluautorská publikace (Liu et al. 2023, PMID: 36883248) a další práce uvedené v sekci 8. To znamená, že produktivita je tudíž výrazně nadprůměrná a v souhrnu “vynikající”. Tyto rukopisy byly přijaty v časopisech, kde se publikuje 90% podobných studií z nejlepších laboratoří v celosvětovém měřítku. Dále je třeba zdůraznit, že se jednalo jak o domácí (UMG CAV Praha a Masarykova Universita Brno) tak zahraniční (Medical College of Wisconsin, UCL Institute of Ophthalmology London) spolupráce, což je standard v oboru genetických studií zahrnující jak pacienty, tak jejich rodiny. Na těchto publikacích se podíleli zahraniční “hvězdy” oboru Dr. Tom Glaser (UC Davis), Dr. Elena Semina (MCW) a Dr. Alice A. Davidson (UCL). Díky tomu, Jana Jedličková získala další významné zkušenosti jak funguje lidská oční genetika na světové úrovni.

Kapitola 1.3. podává krátké souhrnné znalosti týkající se studovaných onemocnění způsobených mutacemi v genech *PAX6*, *FOXE3*, *PITX3* a *MIR204*. Velmi užitečná diskuse se týká “nonsense” mutací v *FOXE3*, který má pouze jeden exon a “non-sense mediated RNA decay” je velmi nepravděpodobný mechanismus. Na druhé straně, *PAX6* “nonsense” mutace (39% celkového počtu) reprezentuje klasický mechanismus vedoucí k “haploinsufficiency”, díky 15 kódujícím a nekódujícím exonům, což ale není zmíněno. Navíc je třeba zdůraznit, že *PAX6* se váže na DNA pomocí N-koncové “paired domain” (PD). V sekci 1.4.2. je velmi dobře popsán syndrom hereditární hyperferritinémie-katarakty způsobeny mutacemi v zhora popsaném genu *FTL*. Uvedené podrobnosti svědčí o důkladné znalosti problematiky ze strany autorky disertace a klinickém významu správné diagnózy. Celkově kapitola 1. je velmi

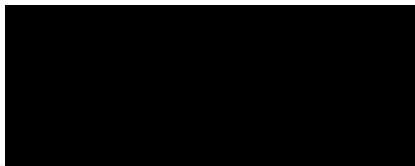
informativní a její jediný nedostatek spočívá, že by bylo ideální diskutovat, které mutace jsou patogenní a které jsou neškodné pohromadě, jaká jsou kritéria a které *in vitro* experimenty zvolit a jaká je jejich argumentační váha (ACMG kritéria a [www.clinicalgenome.org](http://www.clinicalgenome.org)).

Všechny 3 prvoautorské publikace obsahují nové poznatky a jejich výsledky jsou logicky presentované a obsahují náležité kombinace klinických dat, genetiky a funkční studie. Rád bych zdůraznil význam funkčních studií poruch střihu *PAX6* mRNA (c.1183+1G>T a c. 1032+1G>A) pomocí metody “exon trapping”, které schází v řadě předešlých publikací o *PAX6* genu, i když více než 13% *PAX6* mutací ovlivňují tento proces. Další silnou stránkou studie zahrnující *MIR204* a *OCA2* je modelování (Obr. 14) a identifikace molekul mRNA, které vážou tuto microRNA240 a jsou pravděpodobně ovlivněné mutací v *MIR204*.

Velmi významná jsou nová zjištění o patogenních mutacích v genu *FOXE3* v 16 rodinách (Reis et al. 2021). První studie tohoto genu byly popsány v letech 1999-2001, nicméně ani v roce 2023 neznáme jeho optimální DNA-vazebnou sekvenci a proto geny přímo regulované tímto transkripčním faktorem nejsou známy. Jednou z možností, jak taková data získat je generovat iPS bunky od pacientů s různými mutacemi a analyzovat jejich diferenciaci směrem na buňky oční čočky. Významnou částí této studie jsou molekulární modely mutací *FOXE3* (obr. 16), které budou jistě stimulovat do současné doby “zanedbané” studie molekulárních mechanismů tohoto transkripčního faktoru.

Disertační práce obsahuje optimální kombinaci textu, vybraných obrázků a souhrnných tabulek, které dokumentují schopnosti písemné komunikace vyžadované na úrovni PhD.

Na základě vynikající publikační produktivity, schopnosti tvořivé individuální a týmové vědecké práce a významných výsledků v dalším porozumění genetiky lidských očních chorob, doktorandka Jana Jedličková splňuje všechny požadavky k obhajobě s cílem získání titulu Ph.D. podle § 47 vysokoškolského zákona 111/98 Sb.



Aleš Cvekl, Ph.D.

Professor and The Max Berger Chair in Ophthalmology