

Studijní odbor / oddělení doktorského studia
Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta
Albertov 6, 128 00 Praha 2

Věc: Oponentský posudek disertační práce Mgr. Terezy Turkové (Role řízené tkáňově-specifické produkce ISWI proteinu *Smarca5/Snf2h* v myší krvetvorbě)

Vážený pane děkane,

k oponentuře mi byla předložena disertační práce Mgr. Turkové, která se věnuje problematice SMARCA5 ve vývoji složek krvetvorby a imunitního systému. Práce je předložena jako komentovaný soubor 4 experimentálních prací, z nichž u jedné práce je Mgr. Turkova první autorkou (Turkova et al. *Communications Biology* (2024) 7:244).

Autorka v úvodu práce ozřejmuje, že ISWI ATPáza SMARCA5 hraje roli v procesech jako je transkripce, replikace genů či oprava DNA. Protein SMARCA5 je aktivní v komplexech s dalšími proteiny, zejména s BAZ proteiny, které představují protein-protein interagující kofaktory rozpoznávající modifikace histonů a DNA. V úvodu práce se kolegyně věnuje přehledně molekulárním funkcím SMARCA 5 a příbuzného SMARCA 1 a to v kontextu různých proteinových komplexů již se může SMARCA5 účastnit. Autorka také shrnuje předešlou práci laboratoře a dalších skupin, které ukázali, že myší modely s kompletním odstraněním SMARCA5 v celém zvířeti či v krvetvorných kmenových buňkách jsou letální, což neposkytuje možnost zkoumat roli tohoto proteinu v pozdějších stádiích krvetvorby. Celotělový deleční model *Smarca5* prokázal roli SMARCA5 v regulaci délky volné DNA, která se nachází mezi jednotlivými nukleozómy. Absence SMARCA5 proteinu vedla ke zvýšení délky tohoto tzv. linkeru, což ovlivní zásadně vazbu transkripčních faktorů na DNA.

Cíle práce:

Autorka se zaměřila na studium role *Smarca5* v myší krvetvorbě, především lymfopoéze a erythropoéze s využitím několika typů tkáňově specifických modelů ztráty jeho exprese. Dále se věnovala vývoji myšího modelu exprimujícího transgenní *SMARCA5* a studiu vlivu snížené hladiny tohoto proteinu s využitím myších modelů se ztrátou endogenního myšího *Smarca5*. Autorka provedla i analýzu SMARCA5 interaktomu v transgenních myších modelech pro tento protein.

Hlavní závěry a přínosy práce Mgr. Turkové:

Především bych rád shrnul závěry prvo-autorské práce Turkova et al. Pro studium role SMARCA5 v procesu diferenciaci vytvořila kolegyně model s transgenní expresí *Smarca5*, jež je hypomorfní a produkuje nižší množství proteinu. Po zkřížení s delečními modely (*Smarca5^{fl/fl}*) autoři vytvořili model s odstupňovanými hladinami exprese SMARCA5 (z jedné či ze dvou alel transgenu), který umožnil studovat vliv tohoto proteinu na viabilitu a vývoji buněčných podtypů. Hlavními pozorováními je to, že snížením množství SMARCA5 (cca 10 %) dochází k nahromadění multipotentních progenitorů, které nejsou schopné dále diferencovat. Pozorovaný defekt je nejprominentnější v diferenciaci lymfocytů, resp. jejich progenitorů a to zejména u B-lymfocytů. Myelocyty nebyly hypomorfní expresí SMARCA5 příliš ovlivněny. Autorka také využila vytvořené transgenní modely k identifikaci interaktomu SMARCA5 v nejrůznějších myších tkáních, což poskytlo některé zajímavá data. Někteří interakční partneři byly nalezeni prakticky ve všech tkáních, ale jiné interakce byly tkáňově specifické např. ve fetálních játrech interakce s CTCF.

Hodnocení disertační práce

Disertační práce je přehledně uspořádána. Formální úprava i jazyková úroveň jsou v pořádku. Práce je psána češtině, bez gramatických chyb či překlepů, a obsahuje přiměřenou obrazovou dokumentaci.

Diskutovaná problematika je podána jasně a srozumitelně. Výsledky analýz byly publikovány v 4 prestižních odborných časopisech (včetně prvo-autorského článku v časopisu Communications Biology – Nature publishing Group).

Předložená doktorandská disertační práce:

- a) je zvolena na aktuální téma,
- b) disertační práce splnila sledované cíle,
- c) zvolená metodika zpracování je adekvátní, přehledná a dobře doložená,
- d) práce přináší nové poznatky o řadě aspektů biologie SMARCA5,
- e) práce má bezesporu zásadní význam pro pochopení významu SMARCA 5 v hematopoéze a vytvořené myší modely budou využitelné do budoucna pro další experimentální práce

Dotazy:

- i) Je něco známo o funkcích SMARCA1 v hematopoéze nebo je tento protein opravdu exprimován jen v neuronech/placentě. Při pohledu do RNA sekvenačních dat z lidských tkání se zdá, že SMARCA1 je exprimován v mnoha tkáních (a společně s SMARCA5, dataset PMID 24309898)
- ii) Může prosím autorka komentovat možnost existence proteinových komplexu SMARCA5, které nejsou kanonické a mohly by být třeba vysoce specifické pro některý buněčný typ. Je toto třeba známo pro jiné chromatin remodelující komplexy tj. existence jen ve specifickém buněčném typu?
- iii) Bylo popsáno, že SMARCA5 je epigenetický regulátor i v kontextu AML, ale je něco známo o jeho roli u B buněčných malignit? Existuje terapeutický potenciál inhibice SMARCA5 u hematologických malignit, nebo je očekávána vysoká hematologická toxicita takové strategie?
- iv) Prosím můžete komentovat/spekulovat proč k interakci SMARCA5 s CTCT dochází jen ve fetálních játrech?

Na základě předložené práce a jejích vysokých odborných kvalit doporučuji práci jednoznačně k obhajobě podle § 47 VŠ zákona 111/98 Sb a navrhuji udělení titulu PhD. Práce nejenom splňuje standardně kladené požadavky, ale její kvalita je nadprůměrná.

V Brně dne 11.4.2024



Prof. MUDr. Mgr. Marek Mráz, Ph.D.

Vedoucí laboratoře

Central European Institute of Technology, Masaryk University

Kamenice 5, 625 00 Brno, Czech Republic

Ceitec.cz/mrazlab

E-mail: marek.mraz@email.cz, Tel.: +420 602524222