

Školitelský posudek

Student: Lucie Váníková

Školitel: MUDr. Libor Macůrek, PhD

Téma diplomové práce: Funkční charakterizace variant nejasného významu nádorových predispozičních genů

Studijní program: Biologie – Buněčná a vývojová biologie

Cílem předkládané diplomové práce bylo vyhodnotit funkční význam variant nejasného významu nádorových predispozičních genů se zaměřením na vybrané varianty tumor supresorového genu *TP53*. Zatímco inaktivační somatické mutace *TP53* jsou velmi časté a vyskytují se až u poloviny solidních nádorů, germinální varianty *TP53* podmiňují vzácný Li Fraumeni syndrom, který je spojený s velmi významným celoživotním rizikem rozvoje nádorových onemocnění. Kromě známých inaktivačních mutací *TP53* však moderní metodiky NGS často identifikují germinální varianty, jejichž funkční význam je dosud nejasný. V rámci tohoto studentského projektu bylo vyšetřeno celkem 35 různých variant genu *TP53*, u kterých byla testována schopnost indukovat expresi dvou různých cílových genů, konkrétně *CDKN1A/p21* a *MDM2*. Kvantitativní analýza prokázala, že celkem 20 variant bylo plně funkčních, 14 transkripčně neaktivních, a jedna varianta vykazovala intermediální fenotyp. U vybraných variant nacházejících se v C-terminální doméně, byla analyzována i schopnost vytvářet tetramery, což je nezbytný předpoklad pro efektivní nasedání p53 na promotory. Jedním z hlavních výstupů projektu bylo vyšetření nové varianty p53-E339del3, která byla nalezena v rodině se zvýšeným výskytem širokého spektra nádorových onemocnění. Tato nově popsaná p53-E339del3 nebyla schopná vytvářet oligomerní formy a zároveň byla transkripčně neaktivní. Velmi pravděpodobně je tak tato patogenní varianta p53-E339del3 příčinou nádorového fenotypu pozorovaného v postižené rodině. Dalším výstupem projektu bylo vyhodnocení varianty p53-R267W jako pravděpodobně patogenní varianty s předpokládanou nízkou penetrancí.

V průběhu vypracování diplomové práce, se studentka seznámila s řadou základních i pokročilých experimentálních technik molekulární a buněčné biologie včetně cílené editace genomu pomocí technologie CRISPR/Cas9, ustanovení klonálních linií s inducibilní expresí cílového genu a kvantitativního vyhodnocení mikroskopie s vysokou propustností. K experimentální práci přistupovala studentka vždy velmi svědomitě a s vysokým nasazením. Precizní práce byla zcela zásadní při ustanovení 35 stabilních linií nesoucích jednotlivé varianty genu *TP53*. Celkově hodnotím působení Lucie Váníkové v naší laboratoři jako vynikající a příkladné. Předkládaná práce splňuje dle mého soudu veškeré požadavky a doporučuji ji proto k obhajobě s hodnocením výborně.

Libor Macůrek

V Praze 3.9.2024