

Oponentský posudek doktorské dizertační práce

Doktorský studijní program 1.lékařské fakulty UK v Praze: Biochemie a patobiochemie

Práce: Mechanismy regulace exprese genů pro ornitin transkarbamylázu a beta-glukocerebrosidázu a jejich význam v diagnostice

Autor: Mgr.Ondřej Lukšan

Hodnocení práce

Mgr.Lukšan předložil dizertační práci, která je komentovaným souborem 4 otištěných publikací. Celkový rozsah práce je 115 stran včetně příloh, kandidát je hlavním autorem 2 prací, na dalších dvou pracích je spoluautorem; práce byly v době psaní posudku citovány ve Web of Science celkem 6x.

Ve své práci se Mgr.Lukšan věnoval studiu regulačních mechanismů genové exprese u dvou dědičných metabolických poruch:

- a/ podrobné strukturní a funkční charakterizaci promotoru normálního lidského genu pro ornithintranskarbamoylázu (OTC) a dále studiu molekulových mechanismů jedné patogenní genetické varianty v promotorové oblasti
- b/ charakterizaci promotoru normálního lidského genu pro beta-glukocerebrosidázu (GBA)

Mgr.Lukšan se podílel na molekulárně genetické analýze souboru 35 pacientů s deficitem OTC (převážně pacientů českého a slovenského původu); v této studii byly nalezeny 3 nové missense mutace, 3 velké delece genu a jedna missense mutace u manifestní heterozygotky s výrazně posunutou inaktivací X-chromosomu; tato práce přispěla k poznání alelické variability v genu pro OTC.

Za vědecky nejzajímavější považuji dvě autorovy práce, které byly zaměřené na strukturní a funkční charakterizaci promotoru genu pro OTC; tyto studie jsou unikátní i v mezinárodním měřítku a jsou ve světovém písemnictví jedinými pracemi charakterizujícími fyziologickou regulaci exprese lidského genu pro OTC. Mgr.Lukšan charakterizoval oblast začátku transkripce, definoval oblast promotoru nezbytnou pro transkripci a úlohu enhanceru v oblasti 11 kbp směrem 5' od začátku transkripce, dále interakci těchto elementů v DNA s transkripčním faktorem HNF-4 alfa. Tato práce byla rozšířena o studii mutace nalezené u symptomatické pacientky-heterozygotky pro jednobodovou záměnu v promotorové oblasti genu pro OTC. V této studii prokázal Mgr.Lukšan patogenetický mechanismus mutace spočívající v narušení interakce promotoru s enhancerem.

Techniky studia promotoru využil kandidát následně při charakterizaci promotorové oblasti genu pro glukocerebrosidasu, v níž autoři popsali nové regulační elementy a nové začátky transkripce. Tato studie rozšířila dosavadní poznatky o fyziologické expresi genu pro glukocerebrosidasu.

Mgr.Lukšan v dizertační práci neuvádí svůj podíl na vzniku jednotlivých publikací; lze však předpokládat, že na prvoautorských pracích měl podíl zásadní, zatímco na publikacích v Clin Genet a Blood Cells Mol Dis se podílel na vybraných částech projektu. Z popisu metod je zjevné, že práce na

projektech vyžadovala zvládnutí řady technik a multidisciplinární spolupráci a že kandidát je schopen týmové práce. Dizertace byla předložena v anglickém jazyce a je zpracována přehledně. Po formální stránce lze však práci vytknout drobné pravopisné a stylistické chyby včetně chyb v autoreferátu; tyto formální nedostatky však zásadním způsobem nesnižují obsahovou kvalitu práce.

Dotazy

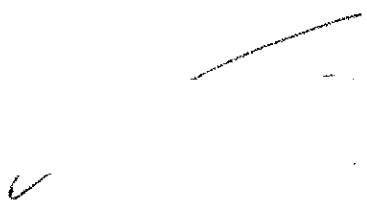
K předložené práci se kandidáta dotazují na následující:

1. Jak časté jsou mutace v regulačních oblastech genů u pacientů s genetickými nemocemi? Domnívá se kandidát, že jsou v praxi správně rozpoznávány a že je jednoduché jejich funkční ověření pro potřeby genetického poradenství?
2. V literatuře jsou popsány dvě studie, které našly asociaci mezi variantami v promotoru genu pro OTC a Alzheimerovou nemocí. Jaká jsou možné mechanismy této asociace?
3. Ve studii 20 pacientů s Gaucherovou nemocí a homozygotií pro běžnou mutaci p.N370S hledali autoři genetické varianty v promotorové oblasti. Jak velkou variabilitu v promotorové oblasti autoři očekávali u pacientů stejného etnického původu a jaká byla v práci nespécifikovaná fenotypová variabilita?

Závěr

Předloženou práci s publikačními výstupy prokázal Mgr. Lukšan schopnost plánovat a provádět experimenty, analyzovat data a dosáhnout jejich publikaci v recenzovaných časopisech a souhrnně tak projevil schopnost samostatné tvořivé vědecké práce.

Na základě výše uvedeného doporučuji udělit titul Ph.D. v oboru biochemie a patobiochemie.



V Praze dne 11. září 2014

Prof. MUDr. Viktor Kožich, CSc.