



UNIVERZITA KARLOVA
I. lékařská fakulta

Prof. RNDr. Jan Černý, Ph.D.

Předseda komise
Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta
Studijní odd.
Albertov 6, 128 43 Praha 2

VÁŠ DOPIS ZNAČKY/ZE DNE

NAŠE ZNAČKA

VYŘIZUJE/LINKA

DATUM

V Praze, 24. 11. 2017

VĚC: Oponentský posudek dizertační práce Patricka von Morgena

Dizertační práce Patrika von Morgena Regulation of the DNA damage response by R2TP mediated MRN complex assembly and control of 53BP1 localisation vznikla na základě čtyř prací spojených tématem regulace buněčné odpovědi na přítomnost dvouřetězcových zlomů DNA v mitoticky aktivních buňkách. Dr. von Morgen je prvním autorem třech prací, zahrnující dva experimentální články (jeden zaslaný k tisku) a jeden přehledný článek, a spoluautorem jedné experimentální práce. Tři doposud vydané práce vyšly v letech 2015 – 2017 v kvalitních recenzovaných časopisech s kumulativním IF>15 a byly zatím již 19x citovány (WoS).

Experimentální prvoautorská publikovaná práce přináší nové poznatky o regulaci stability MRN komplexu pomocí chaperonového komplexu R2TP. V práci byla charakterizována podstata funkční interakce obou proteinových komplexů zprostředkovaná vazbou mezi PIH1D1 podjednotkou R2TP a MRE11 proteinem MRN a bylo ukázáno, že tato interakce je ovlivněna fosforylací serinů C-terminální oblasti MRE11 prostřednictvím CK2. Druhá k publikaci zaslaná práce identifikuje NLS 53BP1 a regulaci nukleární lokalizace tohoto proteinu na základě posttranslačních modifikací domény obsahující NLS. Obě práce si kladou logické a ambiciózní otázky vycházející ze zevrubné znalosti studované problematiky, jak to ostatně dokumentuje prvoautorský přehledný článek popisující současné, a zdaleka nikoliv definitivní, znalosti o významu HSP90 (ko) chaperonového komplexu R2TP ve stabilizaci a funkční regulaci širokého spektra intracelulárních proteinových komplexů. Spoluautorská práce analyzuje regulaci aktivity 53BP1 v průběhu mitózy, kdy vazba proteinu do oblastí míst poškozené DNA je inhibována fosforylací zprostředkovanou PLK1 a CDK1 až do doby do následující G1 fáze.

Všechny experimentální práce zahrnují bohaté laboratorní instrumentarium technik molekulární a buněčné biologie a zobrazené výsledky prokazují jeho zvládnutí na velmi vysoké úrovni. Skvěle podaná je i interpretace experimentálních dat a její zasazení do kontextu zcela současné odborné literatury. Práce, které již byly publikovány, prošly náročným recenzním řízením, v kvalitních časopisech. O kvalitě vlastní práce a dosažených výsledcích tak nemůže být nejmenšího sporu.

1. lékařská fakulta Univerzita Karlova
Kateřinská 32, 121 08 Praha 2
Tel.: 224 961 111
IČ: 00216208
DIČ: CZ00216208

Dizertační práce je vypracována formou úvodu, shrnujícího studovanou problematiku v několika obrazech, cílech a stručných souhrnech přiložených článků s jasným vyjádřením podílu Dr. von Morgena na jejich přípravě, následovaných souhrnnou diskusí. Na 40 stran textu je doprovázeno 188 citacemi a osmi obrázky; zbytek spisu tvoří autorské práce, bohužel zcela postrádající Supplementary files.

Dojem ze skvělých experimentálních výsledků zbytečně kazí text předložené dizertační práce, který se potýká se značným množstvím překlepů a neopravených chyb. Namátkou:

- *CHK2 phosphorylates and activates CDC25 místo inactivates* (str. 13)
- *DNAP-PK místo DNA-PK* (str. 18)
- *168 místo 1686* (str. 34)
- *PIH1D1 místo PIH1D1* (str. 38)
- *...treatment with PIH1D1. místo ...with PIH1D1 siRNA.* (str. 38)

Pozornosti by zasluhoval i seznam zkratk pozbývající vysvětlení zkratk použitých za stranou 24 textu. Pečlivější příprava a rozvaha by prospěla i obrazové dokumentaci (např. na str. 18 je odkaz na tabulku 9, který má být správně tabulka 8, jež je uvedena až na str. 36).

Přes tyto nedostatky lze předloženou dizertační práci a nespornou kvalitu jí podložených publikovaných výsledků považovat za dostatečnou k obhajobě titulu Ph.D. za jménem.

Na autora bych měl následující dotazy:

- 1) ATLD1 je vzácné autosomálně recesivní onemocnění, avšak jeho asociace s nádorovým fenotypem nemusí být nezbytně přítomna (srov. str. 19 nahoře vs. str. 23 dole) na rozdíl od určující neurologické symptomatologie. V roce 2014 popsal Miyamoto et al. (PMID 24332946) dospělou pacientku s progresivní myoklonickou ataxií vzniklou v důsledku přítomnosti homozygotní mutace MRE11 p.A47V. Analýza LCLs buněk u pacientky prokázala snížení stability MRN komplexu (resp. všech jeho komponent). Čím lze vysvětlit porušenou stabilitu MRN v tomto případě, když doména MRE11 zodpovědná za interakci s MIH1D1 je intaktní? Poněkud obecněji, proč se u pacientů s recesivními syndromy spojenými s poruchou jednotlivých komponent MRN komplexu stereotypně setkáváme s výraznou syndromologií spojenou s poruchou motorických neuronů jako terminálně diferencovaných a tedy nedělících se buněk?
- 2) V práci věnované nukleárnímu importu 53BP1 je vyzdvihován význam studie při interpretaci DNA variant postihujících oblast NLS popsanou autorem. Vyskytuje se v této oblasti „hot spot“ pro přítomnost somatických mutací u nádorů? Která HAT je zodpovědná za acetylaci K1667 53BP1 v rámci DDR?

Doc. MUDr. Zdeněk Kleibl, Ph.D.
Ústav biochemie a experimentální onkologie
1. lékařská fakulta Univerzity Karlovy,
U Nemocnice 5, 128 53, Praha 2
tel: 22496 5745
fax: 22496 5732
e-mail: zdekleje@lf1.cuni.cz