

Posudek oponenta habilitační práce

Masarykova univerzita

Fakulta

Habilitační obor

Přírodovědecká fakulta MU

Biomolekulární chemie

Uchazeč

Pracoviště

Habilitační práce

Mgr. Lukáš Trantírek, PhD.

Středoevropský technologický institut MU

DNA conformational polymorphism

Oponent

Pracoviště

Prof. RNDr. Jozef Nosek, DrSc.

Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta

Univerzita Komenského v Bratislave

Predložená habilitačná práca pána Mgr. Lukáša Trantírka, PhD. sa venuje problematike, ktorá je na rozhraní odborov biofyziky, biomolekulárnej chémie, molekulárnej a štruktúrnej biológie. Práca pozostáva z dvoch častí. Prvú časť práce predstavuje úvodný prehľad problematiky v rozsahu 45 strán. Oceňujem, že tento text je napísaný formou prístupnou aj pre čitateľa, ktorý nie je špecialistom v oblasti analýzy štruktúry DNA. Autor v ňom vysvetľuje fundamentálnu úlohu konformačnej plasticity molekúl DNA pre ich biologickú funkciu, charakterizuje typické štruktúrne motívy DNA a poukazuje na ich význam pre dizajn nových protinádorových liečiv. Špecificky sa zameriava na topológiu motívov pozostávajúcich zo štyroch guanínových zvyškov (G4-DNA), ktoré sa môžu tvoriť na teloméroch eukaryotických chromozómov. Významná časť úvodného prehľadu je venovaná aj vplyvu prostredia na konformáciu molekúl DNA a porovnaniu rôznych prístupov využívaných pri štúdiu štruktúry DNA, ich výhodám a limitom pre interpretáciu získaných výsledkov pre živé bunky.

Druhú časť habilitačnej práce tvorí príloha pozostávajúca z reprintov 16 prác publikovaných v prestížnych vedeckých časopisoch, ktoré poukazujú na vysoký odborný štandard habilitácie. Z toho je 14 pôvodných experimentálnych prác (*Biochimie* (2x), *Journal of the American Chemical Society* (4x), *Journal of Biomolecular NMR*, *Journal of Physical Chemistry* (2x), *Nucleic Acids Research* (5x)) a dva review články (*Angewandte Chemie* a *Topics in Current Chemistry*). Na všetkých týchto prácach sa Dr. Trantírek podieľal na príprave a realizácii experimentov, analýze dát a tiež aj spisovaní rukopisov publikácií. Na 10 prácach z tohto výberu je korešpondujúcim autorom. To potvrdzuje, že k prácam, ktoré sú súčasťou habilitačného spisu prispel významnou mierou a v autorských kolektívoch mal kľúčovú úlohu.

Vrátane publikácií, ktoré sú súčasťou habilitačnej práce, je Dr. Trantírek autorom, resp. spoluautorom viac ako štyroch desiatok pôvodných vedeckých publikácií a prehľadných článkov. V databáze PubMed som identifikoval 42 vedeckých prác publikovaných v kvalitných medzinárodných časopisoch s vysokým impakt faktorom. Tieto práce získali značný ohlas v odbornej komunite. V databázach *Science Citation Index* a *Scopus* je evidovaných viac ako 800 citácií a *h-index* autora je 18. Z uvedeného vyplýva, že výsledky práce Dr. Trantírka už získali značné medzinárodné uznanie.

Ako celok predstavuje habilitačná práca kompaktné vedecké dielo zamerané na skúmanie problematiky aktuálnej v oblasti moderného biomedicínskeho výskumu. Výsledky práce habilitanta významnou mierou prispievajú k znalostiam o konformácii a funkcii telomerických G4-DNA štruktúr a tiež aj k rozvoju metód výskumu konformácie molekúl nukleových kyselín. K samotnému textu nemám zásadnejšie pripomienky. Čítanie práce ma však inšpirovalo k niekoľkým otázkam uvedeným nižšie.

Otázky oponenta k obhajobe habilitačnej práce:

1. V úvodnej časti habilitačnej práce autor ilustruje konformačnú plasticitu molekúl DNA a viaceré motívy, ktoré môžu vytvárať komplexné priestorové štruktúry. Enzymatická aktivita nukleových kyselín (ribozým) je známa od 80-tych rokov. Pokiaľ viem, v prípade DNA bola takáto aktivita dokázaná len v podmienkach *in vitro* (DNAzýmy, resp. deoxyribozýmy). Je možné predpokladať, že podobne ako ribozýmy, aj niektoré štruktúry DNA môžu katalyzovať biochemické reakcie *in vivo*?
2. Sú známe nejaké prirodzené DNA ekvivalenty riboprepínačov (*riboswitch*) a aké sú ich biologické funkcie?
3. Štruktúry G4-DNA sú typické pre jednovláknové prečnievania vyskytujúce sa na koncoch telomér eukaryotických chromozómov. Ako často sa takéto štruktúry tvoria aj vo vnútri chromozómov alebo v cirkulárnych genómoch baktérií (napr. v procesoch replikácie, transkripcie alebo rekombinácie, keď sú vlákna duplexu DNA od seba oddelené)? Je možné na základe súčasných znalostí predikovať vytváranie takýchto štruktúr priamo v genomických sekvenciách? Aká je presnosť takýchto predikcií?
4. Bolo by možné pripraviť plazmidové alebo virálne vektory, v ktorých by expresia klonovaných génov využívala špecifické štruktúry DNA a bola kontrolovaná prostredníctvom ligandov, ktoré sa na ne špecificky viažu?
5. V snahe priblížiť sa fyziologickým podmienkam (napr. pri *in-cell* NMR spektroskopii) sú skúmané molekuly DNA dopravené do živých buniek (napr. mikroinjekciou do oocytov *Xenopus laevis*). Kde v bunke sú takéto molekuly DNA lokalizované? V cytoplazme alebo v jadre? Nemôžu rozdiely medzi týmito dvomi bunkovými kompartmentmi viesť k artefaktom, resp. k chybnéj interpretácii výsledkov *in-cell* prístupov?

Záver:

Habilitačná práca pána Mgr. Lukáša Trantírka, PhD. „DNA conformational polymorphism“ **spĺňa** požiadavky štandardne kladené na habilitačné práce a doporučujem, aby bol po úspešnom habilitačnom konaní jej autorovi udelený titul docent v odbore Biomolekulárna chémia.

Bratislava, 29.6.2016