

Posudek oponenta habilitační práce

Univerzita Palackého v Olomouci

Uchazeč	M.Sc. Martin Mistrík, Ph.D.
Habilitační práce	TARGETING GENOTOXIC AND PROTEOTOXIC CELLULAR STRESS PATHWAYS IN CANCER
Oponent	Prof. RNDr. Jan Brábek, Ph.D.
Pracoviště oponenta, instituce	Univerzita Karlova, Přírodovědecká fakulta, BIOCEV

Text posudku

Hodnocená habilitační práce poskytuje ucelený přehled publikovaného výzkumu kandidáta, zaměřeného na buněčné procesy vyvolané genotoxickým a proteotoxickým stresem. Zahrnuje jak významné pokroky ve vývoji nástrojů a metodik pro studium příslušných stresových faktorů a reakcí na stres, tak i nové mechanistické poznatky v příslušných oblastech, jako je reparace DNA, proteostáza, a nádorová transformace. V několika zahrnutých studiích byl také zkoumán potenciál využití zmíněných poznatků pro léčbu nádorových onemocnění.

Práce se zabývá různými chemickými induktory odpovědi na stres a poškození DNA, používaných experimentech in vitro, včetně aphidicolinu, který je i slibným nástrojem pro indukci senescence. Aphidicolin byl použit i v inovativním proteomickém přístupu, který vedl k identifikaci Xeroderma pigmentosum skupiny C (XPC) jako zásadního faktoru pro udržování stability fragilních oblastí. Autor a spolupracovníci vyvinuli pokročilé nástroje a metodologie pro indukci a kvantifikaci poškození DNA. Významným přínosem práce je vývoj metody pro indukci lokalizovaného tepelného poškození na subcelulární úrovni, která autorovi umožnila zkoumat odpověď buněk na přítomnost poškozených proteinů. Aplikace této metody vedla k odhalení nové role proteinů HSP70 a p97 v kontrole kvality proteinů. Autor a spolupracovníci také zavedli neinvazivní metodu pro sběr buněk vlasových folikulů z laboratorních zvířat a lidí, což usnadnilo in vivo a ex vivo studie poškození DNA a dalších reakcí na stres. Tento přístup nabízí cennou alternativu k invazivním biopsiím v kontextu výzkumu nádorových onemocnění a stárnutí.

Autor a spolupracovníci zavedli nový koncept vnitrobuněčného přidělování zdrojů v podmínkách zvýšeného proteotoxického stresu, zejména s ohledem na dostupnost ubikvitinu. Prokázali, že omezené zdroje ubikvitinu vedou ke změnám v expresi ligázy RNF168 E3, což má významné důsledky pro stabilitu genomu a citlivost k určitým typům protinádorové terapie. Objasnili také mechanismus protinádorového účinku disulfiramu. Ukázali, že disulfiram prostřednictvím svého metabolitu CuET, cílí na dráhu p97/NPL4, narušuje proteostázu a indukuje agregaci proteinů. Hlavním cílem CuET je NPL4, který následně agreguje a tvoří nerozpustná depozita. Tato depozita sequestrují mnoho dalších proteinů, což způsobuje zvýšení replikačního stresu a poškození DNA zejména v nádorových buňkách s defekty v reparačních mechanismech. Tím se vysvětluje i vysoká účinnost CuET v léčbě mnohočetného myelomu, rezistentního k inhibitorům proteazomu. Na základě slibných výsledků s CuET autor rozšířil své zkoumání i na další dithiokarbamáty a prokázal společný mechanismus působení měďnatých komplexů těchto látek, což otevírá nové terapeutické možnosti u pokročilých a na léky rezistentních nádorových onemocnění.

Úvod práce je přehledný čtivý, vhodně doplňovaný početnými názornými schématy, dále usnadňujícími orientaci v problematice. Práce obsahuje jen vzácné překlepy (dr. Pavel Moudý), str. 52 je prázdná, jinak k práci nemám žádné formální výhrady.

Závěrem lze konstatovat, že hodnocená habilitační práce představuje ucelený soubor publikací, který významně posouvá pochopení buněčných reakcí na genotoxický a proteotoxický stres a zároveň přispívá k lepšímu porozumění těmto procesům. Práce přispěla i k inovaci a rozvoji experimentálních nástrojů a může sloužit jako podklad pro slibné terapeutické strategie pro léčbu nádorových onemocnění.

Dotazy oponenta k obhajobě habilitační práce

Našel jste ve Vašem testování další běžněji používané léky nebo jiné látky, které interferují s protinádorovými účinky disulfiramu?

Co je známo o mechanismech, prostřednictvím kterých CuET zvyšuje expresi NKG2D receptoru na NK buňkách a CD8+T lymfocytech a NKG2D ligandu na nádorových buňkách?

Jsou ještě další způsoby protinádorové léčby, se kterými by podle Vás bylo vhodné zkoušet kombinovat léčbu disulfiramem?

Závěr

Práce jednoznačně splňuje všechny požadavky, standardně kladené na habilitační práci v daném oboru a práci doporučuji k dalšímu postupu v habilitačním řízení.

V Praze dne 5.5. 2025

Prof. RNDr. Jan Brábek, Ph.D.