

## OPONENTSKÝ POSUDEK

disertační práce "Nuclear receptors in *Caenorhabditis elegans*: NHR-60 regulates embryonic development"

Autor: Mgr. Kateřina Šimečková

Předložená standardně uspořádaná disertační práce sestává z 19 stran úvodního textu, 14 stran oddílu uvádějícího materiál a metody, 27 stran výsledků, 4 stran diskuse a jedné strany závěrů. Práce je doplněna seznamem literárních odkazů zahrnujícím 81 prací. Připojen je i seznam publikací autorky týkajících se tématu disertační práce. Hlavním cílem práce bylo zjištění funkce a vlastností nukleárního hormonálního receptoru NHR-60 u modelového organismu *Caenorhabditis elegans*.

V úvodní části je uvedena charakteristika modelového organismu – hlístice *Caenorhabditis elegans*, jejího vývoje a základní údaje o jejím genomu. Dále jsou podrobněji uvedeny anatomie a mikroskopické uspořádání tkání *Caenorhabditis elegans* a změny těchto struktur v průběhu vývoje. Následující část úvodní stati je zaměřena na podrobnou charakterizaci nukleárních hormonálních receptorů, jejich strukturu, a vazebná místa. Zvláštní úsek je věnován nukleárním hormonálním receptorům u *Caenorhabditis elegans*. Obsáhlá stať uvádí materiál a metody. Pro dosažení stanoveného cíle byla použita řada molekulárně biologických metod, zahrnujících různé modifikace metody PCR, klonování DNA, tvorbu DNA konstruktů a *in vitro* transkripce. Experimentální organismy byly pro některé pokusy modifikovány, a byly připraveny i jejich transgenní kmeny. Pro imunocytochemická vyšetření byla připravena polyklonální králičí protilátka, pomocí této protilátky byl detegován protein NHR-60 v buňkách v různých vývojových stadiích *Caenorhabditis elegans*.

K nejpodstatnějším výsledkům práce patří zjištění, že nukleární hormonální receptor NHR-60 hraje důležitou roli v embryonálním a časném larválním vývoji *Caenorhabditis elegans*. Zvýšená exprese NHR-60 byla zjištěna v „lemových“ buňkách (seam cells) epidermis a v buňkách germinální linie v pozdějších vývojových stadiích. Dále byly zjištěny vztahy mezi NHR-60 a jiným nukleárním hormonálním receptorem, NHR-23 a funkční spojení NHR-60 s acyl-koenzym A vazebným proteinem ACBP-1.

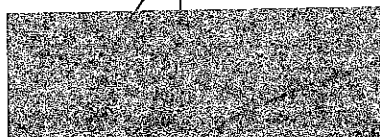
K předložené disertační práci nemám podstatnější připomínky. Práce vychází z vynikajícího metodického zázemí a nesporně přináší nové poznatky. Formální uspořádání odpovídá přijatým požadavkům. Práce je psána pečlivě a srozumitelně, obrazová dokumentace je na vysoké technické úrovni a rozsahem zcela odpovídající.

K předložené práci mám následující dotazy:

- 1) Je znám lidský analog NHR-60 a jaká je jeho funkce, popřípadě jaké poruchy vznikají u člověka v souvislosti s alteracemi jeho regulací?
- 2) V úvodní stati je uvedeno, že nukleární hormonální receptory se podílejí na obraně proti xenobiotikům. Má v tomto směru i NHR-60 nějakou roli?

**Závěr: Předložená disertační práce splňuje jak po stránce formální, tak po stránce obsahové stanovené požadavky. Práci hodnotím jednoznačně kladně a doporučuji ji k obhajobě. Zároveň mohu doporučit, aby byl autorce předložené práce po úspěšně provedené obhajobě udělen titul Ph.D.**

Praha, 29. 5. 2007



Prof. MUDr. Václav Maňavský CSc.

přednosta Ústavu patologie B. LF UK a FNKV  
Šrobárova 50  
100 34 Praha 10