



## Oponentský posudek

na doktorskou dizertační práci Ing. Petra Yilmy

### „Jaderné receptory v regulaci genové exprese, vývoje a metabolismu *Caenorhabditis elegans*“

Předkládaná dizertační práce byla vypracována na 1. Lékařské fakultě Univerzity Karlovy v Laboratoři molekulární patologie pod odborným vedením MUDr. Zdeňka Kostroucha, CSc., který je také vedoucím výzkumného projektu Struktura a funkce buňky v normě a v patologii – Integrativní biologie a patologie v rámci výzkumného centra BIOCEV, v.v.i. Práce je psána v českém jazyce na 69 stranách textu a dále obsahuje 47 stran příloh, což jsou tři přiložené publikace tvořící odborný základ práce. Všechny publikace jsou ve formátu článků přijatých do recenzovaných časopisů, na jedné z nich je kandidát prvním autorem.

Práce je vyhotovena v klasickém členění, kdy po úvodu do problematiky a vytyčení cílů práce následují sekce metody, výsledky a diskuze. Výsledková část a zejména diskuze pak čtenáře v několika kapitolách provede hlavními výsledky prezentovanými v plném rozsahu v přiložených publikacích. Především v metodách, ale i ve výsledkové části, si nelze nevšimnout, že práce byla pravděpodobně dopisována na poslední chvíli a zasloužila by před odevzdáním ještě důkladnou kontrolu textu, ve kterém se vyskytuje větší množství překlepů a různých neobratných slovních formulací, patrně vzniklých překladem z angličtiny.

Tato drobná výtka však nijak nesnižuje odbornou úroveň práce. Ing. Yilma je autorem či spoluautorem celkem 6 publikací, splňuje tedy po formální stránce požadavky na získání titulu Ph.D. více než dostatečně. Během svého doktorského studia se zvládl prakticky seznámit s velkou řadou technik, od klonování a manipulace s genetickým materiálem, přes kultivaci a práci s modelovým organismem hádátka *C. elegans*, až po pokročilé metody hmotnostní spektrometrie a proteomiky, jako dvoudimenzionální chromatografie či metodu imunoprecipitace GFP-TRAP. Věřím, že mu nabyté zkušenosti dobře poslouží v jeho současném působišti či v budoucnu i kdekoli jinde v jiné výzkumné laboratoři, a přeji mu mnoho úspěchů a vědeckých objevů plných nadšení.

Jako podklad pro diskuzi bych dizertantovi rád položil následující doplňující otázky:

1. Zaujalo mě, že ke změně v expresi proteinových forem receptoru NHR-60 dochází při hladovění i při teplotním šoku *C. elegans*, což jsou značně odlišné stresové situace. Můžete uvést nějakou představu či pracovní hypotézu, jak mohou takto odlišné situace vést k regulaci přes stejný protein či mechanismus kontroly jeho exprese, resp. jaká je možná biologická role této regulace v takto odlišných podmínkách?
2. Vámi studovaný jaderný receptor NHR-60 se podařilo popsat ve dvou formách lišících se svou molekulovou hmotností. Tento rozdíl, jak je v práci diskutováno, je patrně způsoben posttranslační modifikací jedné z forem tohoto proteinu. Jejím podstatu se sice dosud odhalit nepodařilo, přesto, můžete uvést alespoň nějaké hypotetické možnosti, které by daný posun v mol. hmotnosti vysvětlovaly? Resp. můžete uvést, které všechny posttranslační modifikace jste v proteomických datech hledali či zvažovali?
3. Pro studium interakčních partnerů proteinu MDT-28 jste využil systém GFP-TRAP, který spočívá v zavedení poměrně velkého fúzního proteinu GFP do struktury proteinu MDT-28, jež má být součástí velmi složitě uspořádaného mediátorového komplexu. V práci sice uvádíte, že tato fúze patrně neovlivnila funkci MDT-28, avšak zároveň byl počet identifikovaných vazebných partnerů MDT-28 ze skupiny transkripčních faktorů podstatně nižší, než se očekávalo – nemohlo to být přeci jen způsobeno přítomností GFP? Můžete prosím diskutovat výhody a nevýhody systému GFP-TRAP a jakým jiným způsobem by případně šlo protein MDT-28 označit pro následnou imunoprecipitaci?

Studiu molekulární a buněčné biologie *C. elegans* je v laboratoři MUDr. Kostroucha věnována dlouhodobá pozornost a věřím, že výsledky předkládané práce posunuly tento výzkum kupředu. Za významné považuji zavádění nových metod, jako např. techniky dvoudimenzionální chromatografie, a výzkumnému týmu přeji, aby se toto úsilí zúročilo při dalším studiu jaderných receptorů. Závěrem konstatuji, že předložená dizertační práce splňuje nároky kladené na odbornou vědeckou práci, jejím vypracováním prokázal Ing. Petr Yilma tvůrčí schopnosti a znalosti, a rovněž tak schopnost samostatné vědecké práce. Práci proto doporučuji k obhajobě.

V Praze dne 20. 11. 2019



RNDr. Ondřej Vaněk, Ph.D.