

RNDr. Petr Pompach, Ph.D.
Biotechnologický ústav AVČR, v.v.i.
Průmyslová 595
Vestec 252 50

Tel: +420 325 873 785
Email: petr.pompach@ibt.cas.cz

Oponentský posudek na práci

Jaderné receptory v regulaci genové exprese, vývoje a metabolismu
Caenorhabditis elegans
Autor práce: Ing. Petr Yilma

Předkládaná disertační práce se zabývá studiem regulace exprese transkripčními faktory ze skupiny jaderných receptorů pomocí modelového systému *C. elegans*. Disertační práce vznikla v Laboratoři molekulární patologie 1. lékařské fakulty Univerzity Karlovy pod vedením MUDr. Zdeňka Kostroucha, CSc.

Práce je zpracována zkrácenou formou a je členěna do obvyklých částí zahrnující Cíle práce, Úvod, Experimentální metody, Výsledky a Diskusi. Kopie tří publikací, na jejichž základě je práce založena jsou uvedené jako příloha. U jedné publikace je kandidát uveden jako první autor, u dalších dvou publikací je kandidát uveden jako třetí autor. Všechny tři práce byly publikovány v impaktovaných časopisech. Za zmínku zde stojí úvést článek „SKIP and BIR-1/Survivine have potential to integrate proteome status with gene expression“, který byl publikován v časopise *Journal of Proteomics*. Kromě třech výše zmiňovaných publikací je kandidát spoluautorem dalších třech publikací, které ale přímo nesouvisí s tématem disertační práce.

V předkládané práci jsou vytčeny dva cíle vedoucí 1) k proteomické charakterizaci proteinu NHR-60 a 2) k proteomické charakterizaci proteinu MDT-28 a jeho vazebných partnerů.

V literárním přehledu autor popisuje vlastnosti a funkce jaderných proteinů a mediátorového komplexu a jeho podjednotek. Všechny použité literární zdroje jsou řádně citovány. Schéma mediátoru s jednotlivými moduly a podjednotkami usnadňuje pochopit popisovanou problematiku. V úvodu se vyskytuje řada chyb a nejasností, jako například na straně 24 věta: „První funkce je jaderná jako mediátorová jednotka a druhá funkce je cytoplazmatická na úrovni cytoskeletonu“.

V další části práce autor popisuje použité metody rozdělené do kapitol „Použité linie *C. elegans* a jejich kultivace, Charakterizace NHR-60 na proteinové úrovni, Princip analytických metod a Metody použité v analýze intracelulárního rozložení editovaného *mdt-28* a metoda GFP-TRAP“. V celé kapitole „Metody“ se bohužel vyskytuje mnoho chyb a nejasností a to i v samotném názvu podkapitoly na straně 31, kde na místo slova „extrachromosomální“ se vyskytuje slovo „exprachromosomální“.

V částech dizertační práce nazvaných „Výsledky“ a „Diskuze“ představuje a shrnuje autor výsledky a poznatky uvedené v jednotlivých příložených publikacích doplněné o obrázky separovaných proteinů a jejich detekci pomocí imunochemických metod, dále potom chromatogramy separované proteinové směsi a tabulku s nalezenými pravděpodobnými vazebnými partnery proteinu MDT-28. Bohužel ani tato část práce nebyla ušetřena chyb a nejasností, které komplikují pochopení souvislostí.

Závěrem konstatuji, že autor předkládané práce prokázal, že si osvojil celou řadu moderních experimentálních metod, pomocí kterých získal zajímavé výsledky. Ačkoliv předložená práce jeví některé nedostatky, doporučuji k obhajobě.

K diskusi bych položil následující dotazy:

- 1) V literárním přehledu autor ukazuje schéma mediátoru na straně 22. Na základě jakých metod byla toho struktura komplexu určena nebo předpovězena?
- 2) Jak velký byl rozdíl teplot pro vyvolání stresu pomocí teplotního šoku?
- 3) Jak si autor vysvětluje jinou pohyblivost proteinu NHR-60 v dráze označené „bez potravy“ oproti dráze označené „s potravou“? Proč je pruh v dráze „bez potravy“ nehomogenní?
- 4) Jaká postranslační modifikace proteinu NHR-60 by mohla způsobit nárůst velikosti proteinu a přibližně 14kDa? Jaká je specificita protilátky proti NHR-60? Jedná se o monoklonální nebo polyklonální protilátku?
- 5) Byly nebo budou proteiny interagující s MDT-28 potvrzeny i jinými metodami než je hmotnostní spektrometrie?

V Praze, 18. 11. 2019

RNDr. Petr Pompach, Ph.D.

