David Doležel, Ph.D.
Institute of Entomology
Czech Academy of Sciences
and
University of South Bohemia
Faculty of Science
Branišovská 31
370 05 České Budějovice
CZECH REPUBLIC

Phone: (+420 38) 777 5239
Fax: (+420 38) 530 0354
e-mail: dolezel@entu.cas.cz

Oponentský posudek na doktorskou práci Mgr. Lenky Polidarové: "Molekulární mechanismus cirkadiánních hodin a jejich synchronizace v trávicím traktu potkana"

Formální stránka práce

Dizertační práce je členěna klasicky, tedy obsahuje úvod, literární přehled popisující cirkadiánní systém, jeho synchronizaci, molekulární architekturu a poté se zabývá gastrointestinálním traktem, jeho ontogenezí a propojením bunečného cyklu s cirkadiánními hodinami. Poslední přibližně jednostránková kapitola je věnována používanému modelu krys s hypertenzí. Ve srovnání s některými dizertačními pracemi by mohl úvod působit stručným dojmem; myslím, že to ale ve skutečnosti dílu prospívá, protože je tak čtivé a zároveň obsahuje všechny potřebné informace dostatečně popsané.

Následuje popis používaných metod a technik (zde bych doporučil u používané protilátky BMAL2 uvádět i její katalogové číslo, nejen firmu Sigma-Aldrich), výsledky, diskuse, shrnutí a závěry. Přílohou práce je 5 článků publikovaných v kvalitních odborných časopisech, přičemž Lenka je prvním autorem na 4 publikacích..

Celkově je práce napsaná čtivě a dobře se v ní orientuje.

Věcná stránka práce

Mgr. Lenka Polidarová se ve své práci systematicky věnuje cirkadiánním hodinám v trávicím traktu potkana, zejména pak jeho synchronizaci a vývoji během ontogeneze. Metodicky tak Lenka musela zvládnout práci se zvířaty, monitorování jejich aktivity, analýzy pohybových dat, *in situ* hybridizaci, měření genové exprese pomocí polymerázové řetězové reakce, práci s proteiny („western blotting"), kultivaci primárních fibroblastů, jejich transfekci reportérovým konstruktem a následné měření cirkadiánní exprese v těchto buňkách.

Zjištěné výsledky

Na práci osobně oceňuji jak se Lenka systematicky věnuje jedné ucelené problematice. V první publikaci nejprve charakterizuje expresi cirkadiánních genů ve střeve a pečlivou analýzou ukazuje na rozdíl ve fázi mezi jednotlivými částmi trávicího traktu, nejvýrazněji mezi dvanactníkem a tlustým střevem (jeho distálním úsekem). Následně je ukázána korelace v expresi mRNA kódující protein Wee1, který je důležitým regulátorem buněčného cyklu. Druhá publikace popisuje vliv trvalého světla na behaviorální rytmicitu a zároveň studuje seřízení aktivity prostřednictvím časově definovaného přísunu potravy. Následuje publikace popisující synchronizaci hodin během ontogeneze. Dvě publikace pak charakterizují rozdíly mezi kmenem krys s normálním krevním tlakem a linií která vykazuje hypertenzi. Poslední práce ukazuje na možnou úlohu transkripčního faktoru BMAL2 v synchronizaci jater prostřednictvím časově omezeného krmení.

K samotným kapitolám nemám připomínky, což asi není překvapivé u výsledků, které již prošly řádným odborným oponentním řízením v odborných časopisech. Zajímaly by mne následující detaily související s prezentovanými výsledky:

1. Poslední publikace popisuje možný vliv BMAL2 v synchronizaci jater. U tohoto proteinu byly popsany alternativní sestřihové varianty. Sledovali jste je? Prosím též o krátký komentář k izoformám BMAL2 – v čem se liší a jak by mohli odlišně působit.
2. Kmen SHR vykazující hypertenzi obsahuje též molekulární markery v genu BMAL1, které naznačují, že by tento gen mohl být zodpovědný za daný fenotyp. Existuje nějaká studie na člověku, která by spojovala hypertenzi s cirkadiánními geny?

Celkové zhodnocení:

Dizertační práce Mgr. Lenky Polidarové je zdařilé dílo, založené na kvalitních experimentálních výsledcích. Práce je přehledně a celkem pečlivě sepsaná. Jednotlivé kapitoly dizertační práce byly publikovány v pěti publikacích, což je samo o sobě úctyhodné množství, přičemž Lenka Polidarová je prvním autorem na 4 publikacích. Jsem přesvědčen, že předložená práce jednoznačně splňuje veškeré požadavky kladené na rigorózní práci a doporučuji ji proto jednoznačně k obhajobě.

V Českých Budějovicích dne 12.6.2015 David Doležel