PŘÍRODOVĚDECKÁ
FAKULTA
Univerzita Karlova

Posudek na doktorskou dizertační práci

Autor: MUDr. Bc. Filip Kaššák
Název: Regulace genové exprese jadernými receptory ve specifickém metabolickém kontextu – evoluční perspektiva

Předkládaná práce MUDr. Filipa Kaššáka zkoumá evoluční konzervovanost regulace genové expresse prostřednictvím jaderných receptorů a jejich koregulátorů, a dále se zaměřuje na dosud nedostatečně objasněný mechanismus negativní regulace.
V první části práce autor využívá specifického klinického projevu pacientů se syndromem rezistence k thyroidnímu hormonu k pátrání po nových mutacích v THRB genu, které by pomohly objasnit regulační mechanismy závislé na vazbě koaktivátorů a korepresorů. Objev dříve nepopsané mutace T273R jistě otevírá prostor pro detailnější analýzu mechanismu negativní regulace. Dále autor využil dosud nepříliš využívaného modelu vločkovce *Trichoplax adhaerens* k prozkoumání evoluční konzervovanosti RXR. Práce přinesla popis *bona fide* RXR orthologu a průkaz jeho vlivu na expresi genů pro další jaderné receptory. V poslední části se autor zaměřil na charakterizaci genu pro podjednotku Mediátorového komplexu MDT-28, jenž byl v minulosti v genomu *Caenorhabditis elegans* nesprávně anotován, a přinesl tak důkaz o vysoké konzervovanosti Mediátorového komplexu napříč živočišnou říší. Původně anotovaný gen byl následně identifikován jako ortholog genu pro Perilipin, čímž byla korigována v literatuře uváděná informace o jeho absenci v genomu *C. elegans*. Výsledky autorovy práce byly součástí několika publikací v impaktovaných časopisech a prošly již tedy oponenturou vědecké obce. Věřím, že získané výsledky povedou k navazujícím studiím, které poodhalí další taje regulace transkripce prostřednictvím jaderných receptorů, řada pozorování k tomu přímo vybízí.
Po formální stránce je práce na vysoké úrovni, a to jak po stránce jazykové, tak grafické. Rozsáhlý úvod poskytuje čtenáři dostatek informaci pro pochopení problematiky, a to včetně evolučních aspektů. Osobně bych možná jen kapitoly 1.5.1-3 přiřadila vždy k odpovídající kapitole Výsledků, vzhledem k tomu, že práce využívá tři různé modely a na každém zkoumá jinou otázku, musela jsem se při čtení Výsledků k těmto kapitolám vždy vrátit, abych si ujasnila experimentální logiku. V Metodách, případně u jednotlivých obrázků, bych ocenila zmínku o použitých statistických testech a o konkrétních metodách analýzy obrazu (týká se hlavně obrázku 29 a 30). Diskuze je velmi erudovaná a demonstruje autorův vhled do tématu. Jediné, co u mě vzbudilo mírné rozpaky, je samotný název dizertační práce, který sliboval specifický metabolický kontext – ten mi asi v textu zůstal skryt.

Otázky k diskuzi:
1) Mutace T273R u TRβ1 pravděpodobně omezuje pohyblivost helixu 12, nicméně stále se jedná jen o predikci. Jakým způsobem byste ověřil, že mutace brání vazbě koaktivátoru?

2) Zaujaly mne experimenty s krmením *T. adhaerens* různými druhy řas a následným působením 9-cis-RA. Vzhledem k tomu, že o biologii *T. adhaerens* nic nevím, je pro mě interpre-

Přírodovědecká fakulta UK
Katedra buněčné biologie

adresa: Viničná 7, 128 00 Praha 2 **telefon:** 221 951 761 **e-mail:** cellbiol@natur.cuni.cz
ičo: 00216208, **dič:** CZ00216208 **fax:** 221 951 758 **web:** www.natur.cuni.cz

tace výsledků velkou neznámou a v Diskuzi jsem se k tématu nic nedočetla. Můžete prosím tyto výsledky komentovat?

3) Je něco známo o skladbě response elementů v promotorech genů *T. adhaerens* regulovaných RXR? Lze z toho případně něco usuzovat o mechanismech pozitivní/negativní regulace?

4) V Diskuzi navrhujete využití *T. adhaerens* jako nového modelu pro studium funkce mutací v RXR genech pocházejících z nádorů. Jaké jsou v současnosti metodické možnosti tohoto modelového organismu? Jsou možné zásahy do genomu, transgeneze, ...?

5) V Diskuzi zmiňujete, že zvýšená exprese MED28 vede k nádorovému bujení. Testovali jste vliv overexprese MDT-28 u *C. elegans*? Očekával byste případně nějaký fenotyp?

6) Co je známo o negativní regulaci prostřednictvím jaderných receptorů u *C. elegans*?

Závěr: Předložená práce splňuje požadavky na doktorskou dizertační práci stanovené oborovou radou. Autor prokázal schopnost samostatně vědecky pracovat, navrhovat a provádět experimenty a výsledky interpretovat a využít pro konstrukci nových modelů a dalších hypotéz. Práci MUDr. Bc. Filipa Kaššáka proto doporučuji k obhajobě jako podklad pro udělení titulu Ph.D. za jménem.

V Praze 5.9.2021

[redacted]
Mgr. Marie Macůrková, Ph.D.

:

Přírodovědecká fakulta UK
Katedra buněčné biologie

adresa: Viničná 7, 128 00 Praha 2
telefon: 221 951 761
e-mail: cellbiol@natur.cuni.cz
ičo: 00216208, **dič:** CZ00216208
fax: 221 951 758
web: www.natur.cuni.cz