

OPONENTSKÝ POSUDEK
disertační práce

Disertant: MUDr. Otakar Raška

Téma disertační práce:

Siroťčí jaderný receptor TLX (NR2E1) v regulaci buněčné reprodukce a diferenciaci
(Orphan nuclear receptor TLX (NR2E1) in regulation of cell reproduction and differentiation)

Obor: 02 – Biologie a patologie buňky

Předložené písemné podklady pro obhajobu disertační práce MUDr. Otakara Rašky poskytují ucelený přehled o řešené problematice.

Disertační práce je psána v angličtině a je v podstatě členěna podle běžných zvyklostí, přičemž abstrakt a klíčová slova jsou uvedeny i v češtině. Dále je uvedena synapse disertace, úvod s literárním přehledem o jaderných receptorech a poté cíle disertace (rovněž hypotese). Disertace obsahuje výsledky dvou prací. První práce pojednává o vyklonování kodující části *tlx* genu u ploštěnky a o významu TLX v homeostáze tkání tohoto živočicha. Druhá práce pojednává o expresi a distribuci TLX v buňkách glioblastomových buněčných linií. Z tohoto důvodu je metodika, výsledky, diskuse a závěry postupně uváděny jako část I a část II. Disertace je ukončena seznamem použité literatury.

Doktorand je dosud autorem 7 impaktovaných publikací, v nichž je dvakrát prvním autorem, což dokládá jeho odbornou zdatnost.

Doprovodný text

Text disertace je v angličtině, je čtivý a srozumitelný. Lze předpokládat, že v disertaci budou chyby (např. nesprávné používání určitých a neurčitých členů). To je ale úděl všech, pro které angličtina není mateřským jazykem.

Synapse disertace

Synapse je nejen vhodně umístěna na začátek disertace, ale je i dobře napsána. Dává ucelený pohled na disertaci a usnadňuje tak práci oponenta.

Úvod

Úvod pojednává o jaderných receptorech a je zde uvedeno zdůvodnění využití modelu ploštěnky *S. mediterranea* v této oblasti badatelské činnosti. To dává návod logickému zdůvodnění práce jak s ploštěnkou, tak s lidskými glioblastomovými buňkami. Jak vyplývá z výsledkové části, struktura a funkce TLX jaderného receptoru je významně evolučně zachována. Zajímavé a důležité je uvedení klasifikace jaderných receptorů. Na konci úvodní části disertace jsou shrnuty poznatky o TLX.

Cíle

Specifickým cílem (je uvedena i hypotese) disertace bylo vyklonovat celou délku cDNA genu *tlx* *S. mediterranea* a funkčně charakterizovat TLX. Rovněž studovat TLX v lidských glioblastomových buněčných liniích a stanovit jeho expresní vzorec v rámci buňky.

Materiál a metodika je dostatečně popsána, přičemž popsané nádorové linie jsou detailně charakterizovány.

Výsledky, diskuse a závěry sestávají z části I a části II. Při hledání jaderných receptorů v části I byl využit model ploštěnky a použity genomické a infromatické přístupy. Podařilo se zjistit, že v ploštěnce je *tlx* exprimován především v hlavičce. RNA interferencí bylo zjištěno, že TLX je kritický pro zachování stavby těla během cyklů hladovění/krmení a pro integritu oblasti mozku a očí ploštěnky. Tyto nálezy vedly k provedení části II disertace. TLX u ploštěnky vykazuje vysokou podobnost TLX u obratlovců. U obratlovců je TLX důležitý pro uchování a integritu nervové tkáně. Proto byla použita analýza exprese a intracelulární lokalizace TLX v buňkách glioblastomových buněčných linií. Pokusy ukázaly, že funkce TLX v homeostáze a vývoji nervové tkáně je evolučně zachovalá a že funkční mechanismus by mohl zahrnovat regulaci jeho intracelulární distribuce. Závěry disertace jsou na základě získaných výsledků výstižně formulovány.

Použitá literatura

Použitá literatura je rozsáhlá a svědčí o o tom, že doktorand je dobře seznámem s problematikou.

Zde mám formální připomínku. Názvy některých publikací jsou psány malými písmeny, názvy jiných publikací velkými písmeny. To však nesnižuje kvalitu disertace.

Autoreferát

Příložený autoreferát je klasicky členěn. Jeho hlavní část je psána v angličtině. Autoreferát přehledným způsobem shrnuje studovanou problematiku. Obecné aspekty jsou doloženy seznamem literatury, která se vztahuje k předkládané disertační práci. K autoreferátu mám 3 formální připomínky. Citace Masata et al. je v textu i v seznamu publikací uvedena dvakrát. Seznam zkratk je stejný jako u disertace, ač mnohé citované publikace nejsou zmiňovány v textu autoreferátu. Opakuje se zde, i když v menší míře než v disertaci, že u citací je psaní názvů publikací malými či velkými písmeny.

Doktorand v disertační práci prokázal tvůrčí schopnost samostatné vědecké práce. Práce s *S. mediterranea* je původní a přináší zcela nový nález. Originální je zdůvodnění použití modelu bezobratlých. Ač samozřejmě nelze přímo aplikovat výsledky získané na organismu ploštěnky na obratlovce včetně člověka, některé základní funkce genu *tlx* mohou být do značné míry evolučně konzervované.

Dotazy

Jaká je představa doktoranda o základní funkci TLX? Představuje si, že TLX je jen represor nebo podobně jako další jaderné receptory může jeho posttranslační modifikace z represoru udělat aktivátor?

Je známa struktura molekuly TLX? Je možné na základě této struktury nebo porovnáním se známými strukturami jaderných receptorů odhadnout, zda TLX má přirozený ligand, možný umělý ligand nebo antiligand („disruptor“)?

U *C. elegans* existují asi 3 homology TXL. Nejblíže homolog (nhr-67) je exprimován v omezeném počtu buněk, reguluje růst gonády a rozmnožovacích struktur a určuje levopravou asymetrii. V předložené práci je zmíněna změna neurálních struktur

(mozková část, oko), ale také v distálních částech těla. Byly patrné změny ve funkci neurálních buněk nebo v gonádě? Očekáváte také expresi genu *tlx* a funkci v jiných tkáních?

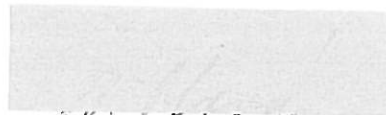
KO myš *tlx* *-/-* je životaschopná. Znamená to, že TLX není bezpodmínečně nutný pro vývoj do dospělosti. Je možné, že fenotyp, který jste viděl po inhibici *Smed-tlx-1* a ukázal se jen v cyklech růstu a resorpce, odráží úlohu TLX v regulaci rovnováhy mezi udržováním kmenových buněk a udržováním celkového plánu těla?

Během mitózy je patrný zvýšený signál pro TLX v extrachromosomálním kompartmentu. Je to spojeno s uvolněním TLX z chromatinu během mitózy nebo jeho zvýšenou syntézou v G2 nebo obojím? Může být TLX maskovaný v G2 zabudováním v proteinových komplexech?

Závěr

Kandidátská disertační práce MUDr. Otakara Rašky na téma *Sirotčí jaderný receptor TLX (NR2E1) v regulaci buněčné reprodukce a diferenciace* se vyznačuje tvůrčím přístupem k řešení problematiky. Závěry založené na znalosti problematiky, synapse, literární přehled, originalnost nálezů a prezentace svědčí o kvalitě disertační práce. Disertaci doporučuji k obhajobě. Jestliže MUDr. Otakar Raška úspěšně disertaci obhájí, doporučuji, aby mu byl udělen titul PhD.

V Praze 14. 9. 2012



Doc. RNDr. Berta Otová, CSc.
Ústav biologie a lékařské genetiky
Universita Karlova v Praze, 1. LF