

OPONENTSKÝ POSUDEK NA DISERTAČNÍ PRÁCI

Autorka práce: Mgr. Aneta Vávrová

Název práce: Role of the post-translational modifications in the function of pregnane X receptor

Oponent: Doc. RNDr. Jan Vondráček, Ph.D.

Předložená disertační práce se zabývá velmi zajímavou problematikou možné regulace transkripční aktivity pregnanového X receptoru (PXR) prostřednictvím fosforylace specifických aminokyselinových zbytků. Téma práce je vysoce aktuální a významné především z hlediska regulační úlohy PXR v kontrole exprese a aktivity významných cytochromů P450 přispívajících k metabolizaci řady léčiv. Práce je tradičně členěna na teoretický úvod, metodiku, výsledky a diskusi. Součástí disertační práce jsou 2 prvoautorské publikace otištěné, či přijaté do tisku, v renomovaných impaktovaných časopisech. Lze tedy konstatovat, že podmínky pro podání disertační práce byly splněny. Cíle práce, formulované na s. 14 jsou jasně definovány. Lze také konstatovat, že postup řešení práce, použitá metodika a výsledky odpovídají cílům disertační práce. Po formální stránce je předložená disertační práce velmi přehledně a kvalitně zpracována.

Konkrétní připomínky:

1) Teoretická část

V úvodu teoretické části autorka shrnuje současné poznatky o struktuře, regulaci a aktivaci PXR. Zmiňuje také úlohu PXR v regulaci biotransformačních enzymů, nádorových tkáních či jeho vlastní endobiotickou roli v regulaci metabolismu glukózy, lipidů nebo tvorbě žlučových kyselin. Teoretickou část lze považovat za přehlednou a podrobně zpracovanou – poskytuje čtenáři relevantní informace nezbytné pro orientaci ve studované problematice.

Vzhledem k tomu, že autorka se ve své práci soustředí především na úlohu fosforylovaných residuí T248, Y249 a T422, bylo by však možná vhodnější podrobněji zmínit, co je známo o úloze regulace prostřednictvím fosforylací u dalších významných jaderných receptorů kontrolujících expresi enzymů přispívajících k metabolizaci léčiv (CAR apod.), spíše než obsáhle komentovat úlohu dalších typů post-translačních modifikací PXR.

2) Použité metody

K této části nemám závažnější připomínky.

3) Výsledky a diskuse

V rámci výsledků a diskuse jsou prezentovány výsledky, které již prošly oponentním řízením v průběhu publikačního procesu. Jedná se vesměs o zajímavé poznatky, a proto bych rád autorce položil několik otázek, které vyplývají z prezentovaných výsledků:

1) Ve své disertační práci autorka komentuje výsledky naznačující, že fosforylace T248, Y249 a T422 by mohla významně ovlivnit schopnost PXR vázat se na cílové DNA sekvence a aktivovat expresi modelového cílového genu – CYP3A4? Dá se z výsledků (či jiných experimentů, které nejsou přímo součástí této práce) také usoudit zda tato AA residua modulují stabilitu či degradaci PXR?

2) Dá se očekávat, že fosforylace studovaných AA residuí by mohla ovlivnit jadernou/cytoplazmatickou lokalizaci PXR? Jaká je úloha dalších známých fosforylačních míst PXR v regulaci lokalizace?

3) V rámci disertační práce byl analyzován dopad mutací residuí T248, Y249 a T422 především na aktivaci promotoru CYP3A4. Pokusila se autorka, či to má v plánu, analyzovat také úlohu těchto residuí v regulaci některého z enzymů 2. fáze biotransformace PXR, jako je např. UGT1A1, u něž byla detekována přítomnost PXR responzivních elementů v promotoru? Autorka v úvodní teoretické části zmiňuje některé z genů regulovaných PXR - jsou v současné době některé z lidských enzymů 2. fáze považovány za skutečně prokázané cílové geny PXR?

Závěrem konstatuji, že předložená disertační práce představuje, po obsahové i formální stránce, kvalitní výstup postgraduálního studia. Autorka prokázala své tvůrčí schopnosti a předložená práce splňuje požadavky v daném oboru. Proto doporučuji, aby byla práce přijata k obhajobě a dalšímu řízení. Rovněž doporučuji, aby byl Mgr. Anetě Vávrové po úspěšné obhajobě práce přiznán vědecký titul Ph.D. dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

V Brně dne 5. 6. 2013

Doc. RNDr. Jan Vondráček, Ph.D.
Biofyzikální ústav AV ČR, v.v.i.
Královopolská 135
612 65 Brno