

Oponentský posudek
doktorské disertační práce Mgr. Adriany Roithové

Disertační práce „Kontrola kvality skládání snRNP částic“ Mgr. Adriany Roithové se soustřeďuje na problematiku biogeneze snRNP – ribonukleoproteinových částic, které hrají klíčovou úlohu při sestřihu pre-mRNA. Rozhodující podíl prezentované experimentální práce představují fluorescenčně mikroskopické analýzy lokalizace jednotlivých složek snRNP a jejich modifikovaných variant, tedy fluorescenčně značených snRNA a s nimi asociovaných proteinů. Za těmito experimenty se skrývá velké množství zvládnutých molekulárně biologických přístupů, zahrnují též např. použití deplece vybraných proteinů pomocí siRNA a *in vitro* syntézu či purifikace vybraných molekul. Práce obsahuje řadu původních vědeckých nálezů. Kvalita části z nich byla již ověřena nezávislými oponenty ve dvou prestižních recenzovaných časopisech.

Po formální stránce se jedná o dobře koncipovanou práci, které však výrazně chybí finální kontrola. V kapitole 1 bohužel došlo k chybě číslování kapitol. Oddíly textu druhé úrovně zde nejsou číslovány a celý systém číslování v rámci obsažné a členité úvodní kapitoly se tím zhroutil. Celé práci by prospěla kontrola angličtiny, a to jak gramatická, tak stylistická. Ruší i drobnosti, jako je zvýšená frekvence překlepů v celé práci, posunutý popis u obrázku (obr. 27), nebo nejednotnost v používání velkých a malých písmen v názvech hesel v seznamu zkratk: autorka zde uvádí například „Polymerase chain reaction“, ale „reverse transcription followed by polymerase chain reaction“, nebo „Wild type“, ale „western blotting“. U posledně jmenovaného hesla bych se osobně přimlouval za velké počáteční písmeno, už z úcty k Edwinu Southernovi, na jehož počest tato slovní hříčka původně vznikla.

Odborně lze práci sotva co vytknout. Začíná obsáhlým Úvodem, který ve stručnosti a úplnosti poskytuje nezbytný základ pro čtení výsledkové části. Výsledková část práce je účelně rozdělena do tří podkapitol podle zaměření jednotlivých skupin experimentů, tedy na část věnovanou roli Sm proteinů při akumulaci snRNP v Cajalově tělísku, část zabývající se úlohou proteinu Gemin3 při skládání Sm ringu, a část pojednávající o rozpoznávání nevyzrálých snRNP částic v cytoplasmě a o jejich směřování do P-bodies. Podobně je členěna i hutná a přehledná Diskuse.

Celkově se jedná o kvalitní práci, která rozhodně splňuje kritéria pro udělení doktorské hodnosti. Součástí práce jsou data uveřejněná ve dvou odborných člancích publikovaných v prestižních časopisech Cell Reports a Nucleic Acid Research. Mgr. Roithová je spoluautorkou prvního a první autorkou druhého z nich. Práce dále obsahuje velké množství dosud nepublikovaných dat, která se jistě stanou základem dalších publikací.

Na autorku práce nemám doplňující otázky. Nicméně, následující náměty by mohly inspirovat diskusi po skončení obhajoby:

1. V Diskusi na str. 101 podáváte možné vysvětlení, proč se mikroinjikovaná U1 snRNA akumuluje v CB větší měrou než je tomu u jejího endogenního protějšku (obr. 22). Do jaké míry mohou podobné odlišnosti mezi Vámi sledovanými a endogenními snRNP částicemi ovlivňovat interpretaci Vašich pozorování i v případě ostatních snRNP částic?
2. Vaše výsledky naznačují, že Sm proteiny jsou nejen nezbytné pro akumulaci snRNA molekul v Cajalových tělískách, ale že hrají i úlohu ve stabilizaci (formování?) CB jako takového. Ukazuje podle Vás výsledek v SmG-knockoutovaných buňkách (obr. 27C) spíše na specifickou roli SmG proteinu při skládání Sm ringu nebo na existenci přímé coilin-SmG interakce?
3. Jak daleko lze zajít ve strukturně-funkční analogii mezi CB a P-body? Pokud vím, tak se např. má za to, že efektivita skládání U4/U6.U5 tri-snRNP uvnitř CB je výrazně vyšší v porovnání s okolní nukleoplasmou. Je možné analogicky říci, že P-body např. zvyšuje efektivitu nasedání 5'-3' deoxyribonukleázy Xrn1 a jejích kofaktorů na mRNA určenou k degradaci oproti situaci v cytosolu?

Závěrem lze říci, že autorka prokázala předpoklady k samostatné tvořivé vědecké práci a doporučuji proto, aby jí na základě předložené disertační práce byl udělen titul PhD.

V Praze, 25. 10. 2018

doc. RNDr. Jan Malínský, PhD.

Ústav experimentální medicíny AV ČR
Víteňská 1083
142 20 Praha 4