



Posudek oponenta disertační práce

Název práce: Study of the mechanism of gene expression regulation at the level of functional organization of chromatin domains

Dynamics of FC/DFC units of cell nucleolus

(Studium mechanismu regulace genové exprese na úrovni funkční organizace chromatinových domén)

Dynamika FC/DFC jednotek buněčného jadérka)

Autor: Ing. Matúš Hornáček

Ve své anglicky psané disertační práci se Ing. Matúš Hornáček zaměřil na problematiku buněčného jadérka, konkrétně dynamiku FC/DFC komponent v průběhu buněčného cyklu a kinetiku transkripce ribozomálních genů. Dizertační práce je založena na čtyřech vědeckých sděleních, u jedné je aspirant prvním autorem.

Oponovaná disertační práce má celkem 97 stran a 73 stran příloh. Je psána v anglickém jazyce a je přehledně členěna do kapitol: úvod, literární přehled, seznam publikací autora, cíle práce, materiál a metody, výsledky, diskuse, závěr a přehled citované literatury. Přílohou jsou čtyři publikované články.

Teoretická část (28 stran) poskytuje fundovaný přehled poznatků o struktuře a organizaci buněčného jadérka, transkripci ribozomálních genů a replikaci jadérka. Převzaté obrázky jsou adekvátně citovány, ale v některých případech by si zasloužily lepší rozlišení (př.: 2.3, 2.13, 2.14, 5.3, aj.). Cíle práce jsou uvedeny jasně a přehledně a byly splněny. Metody zpracování výsledků jsou odpovídající vytyčeným cílům.

Vlastní výsledky jsou rozděleny do dvou tematicky ucelených částí (18 stran). Na rozdíl od příložených publikací bylo velmi obtížné orientovat se ve výsledkové části, která by si zasloužila větší pozornost a pečlivost. Text postrádal podrobný popis výsledků a příložených obrázků, obsahoval časté chyby v jejich značení a odkazech. Některé obrázky nebyly v hlavním textu vůbec popsány (př. 6.2B), jiné byly v textu označeny čísly lišícími se v hlavním textu a textu pod obrázkem (př. 6.12 vs. 6.11, 6.16B vs. 6.17B, 6.17A a C vs. 6.17 A a C). Další obrázky byly na rozdíl od publikací nedostatečně popsány (př. 6.16) nebo byly sice popsány v hlavním textu, ale dále už na ně chyběly odkazy (př. 6.17, 6.18, 6.19).

Části diskuse a závěr shrnují a diskutují uvedené výsledky a jsou psány srozumitelně a přehledně. Práce obsahuje cca 200 literárních odkazů. Na základě literárního přehledu mohu konstatovat, že student detailně zpracoval problematiku po stránce teoretické.

Téma disertační práce věnující se studiu mechanismů regulace genové exprese a buněčnému jadérku je velmi aktuální. Student prokázal, že se v problematice velmi dobře orientuje. Svými experimentálními výsledky významně přispěl k rozšíření našich znalostí o dynamice buněčného jadérka a regulaci transkripce ribozomálních genů v průběhu buněčného cyklu. Oceňuji publikační aktivitu Ing. Matúše Hornáčka, která se skládá celkem z 8 publikací v 6 vědeckých časopisech s impakt faktorem.

Dotazy/Připomínky:

Píšete, že specifické epigenetické modifikace jako jsou acetylace a metylace histonů a metylace DNA regulují transkripci rDNA. Mohl by autor dohledat, které konkrétní epigenetické modifikace se účastní regulace transkripce rDNA a případně kam se váží v rámci rDNA?

Ve výsledcích byla dokumentována ztráta signálu pol I u FC/DFC jednotek podléhajícím replikaci během rané S fáze. Pozorovali jste nebo je znám z literatury podobný efekt u dalších proteinů (např. UBF) zapojených do transkripce rDNA?

Jakým způsobem jste se vyrovnal s pohybem celých živých buněk při pozorování fluktuace vybraných proteinů pomocí mikroskopických technik v osách x, y a z? Bylo by možné sledovat tuto fluktuaci a vztahovat ji k něčemu nepohyblivému či nějaké méně pohyblivé komponentě? Navrhněte další způsob, jak sledovat fluktuaci transkripce.

Jakou intenzitu laseru v jednotlivých vlnových délkách jste použil pro FRAP experimenty? Víte, zda tato použitá síla laseru způsobuje v buňce poškození DNA? Zkoušel jste místo „2-channel“ FRAP použít pouze „1-channel“ FRAP a porovnat výsledky, zda možná reakce buňky na poškození DNA neovlivňuje kinetiku proteinů po fotovybělení? Kolik buněk bylo použito pro analýzu jednotlivých FRAP experimentů?

Závěrem shrnuji, že se jedná o vědecky vysoce hodnotnou práci s mimořádnými publikačními výstupy. Práci tímto doporučuji k obhajobě.

V Brně 8. 10. 2018

.....
Mgr. Lenka Stixová, Ph.D.

Biofyzikální ústav, Akademie věd České republiky, v.v.i.
Královopolská 135, 612 65 Brno
Telefon: +420 - 541 517 212
E-mail: lenka@ibp.cz