

## Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazečky: **Kateřina Krejčová**

Název práce: **Molekulární mechanismus regulace opravné dráhy Fanconiho anémie fosforylací proteinu FANCI**

**A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce (označte právě jednu z možností)**

<b>1. Rozsah DP a její členění</b>	
	A - přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí
<b>X</b>	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
	<b>N - nedostatečné</b>

<b>2. Odborná správnost</b>	
	A - výborná, bez závažnějších připomínek
	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
<b>X</b>	C - uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami
	<b>N - nevyhovující, s hrubými chybami</b>

<b>3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů</b>	
	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
<b>X</b>	B - uspokojivé, s občasnými neobratnostmi zejm. v umístění odkazů, nebo s celkově nižším počtem citací
	C - s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, přednášky, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat
	<b>N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)</b>

<b>4. Jazyk práce</b>	
	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
<b>X</b>	C - upokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
	<b>N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami</b>

<b>5. Formální a grafická úroveň práce</b>	
	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
<b>X</b>	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo četnějšími drobnými chybami
	<b>N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami</b>

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

V předkládané diplomové práci se autorka věnovala poznání molekulárního mechanismu Fanconiho opravné dráhy, která hraje důležitou roli při poškození DNA vyvolaných meziřetězcovými kovalentními propojeními komplementárních vláken DNA. Autorka se zaměřila na studium dvou proteinů, které jsou zásadní pro tuto dráhu, a to FANCI a FANCD2. V experimentální části své práce připravila několik rekombinantních mutantních forem výše uvedených proteinů, na nichž následně testovala jejich vazebnou afinitu k DNA a studovala podmínky této interakce. Práce je členěna obvyklým způsobem, nicméně obsahuje určité nedostatky.

**ad 1.** Ačkoliv je práce členěna obvyklým způsobem, **nezdá se mi její rozsah dostatečný a vyrovnaný.** Teoretická část zmiňuje opravdu to nejnужnější minimum, místy až nedostačující pro kompletní pochopení problematiky a čtenář se po přečtení takového úvodu rozhodně nemůže cítit „v obraze“. Zejména bych doporučil rozšíření kap. 1.5 *Fanconiho anemie a nádorová onemocnění*. Podobně, **výsledková část mi přijde velice strohá** a jistě by jí neuškodilo rozšíření ve smyslu přidání některých údajů nebo vysvětlení některých výsledků. Největší část pak představuje část *Materiál a metody*, která se uvádí na 23 stranách, což je takřka stejný počet jako teoretické a výsledkové části dohromady. Nelogičnost sice není v základním členění, ale to již neplatí o vlastním textu v rámci jednotlivých kapitol (např. v kapitole 1.1 se nejdříve čtenář dozví, že Fanconiho anemie je autosomálně recesivní onemocnění, pak následuje pár vět tvořených poněkud nesrozumitelnými zkratkami Fanconiho genů a pak se autorka opět vrací k obecným informacím o Fanconiho anemii a její manifestaci.) Podobných nelogičností je více, zejména však vycházejí z naprosto nešťastného zacházení autorky s jazykem.

**ad 2.** Odbornou správnost jsem nucen hodnotit stupněm C, protože výklad v celé teoretické části je **velice nesrozumitelný a někdy matoucí** (např. kap. 1.3). To je dáno jednak špatným používáním jazyka a jednak zaplevelením textu zkratkami, které text **extrémně zneprůhledňují**.

Druhým a vážnějším nedostatkem je **popis výsledků**, který **nepovažuji za dostatečný**. Chybí mi detailnější popis výsledků, tak aby bylo patrné, o jaké výsledky se jedná a co dané grafy, popř. čísla znamenají. **Zcela nedostatečný mi přijde popis obr. 16 a 17**, jejichž legenda (popř. vysvětlení v textu) by mohla být poněkud sdílnější (chybí zde detailní popis situace, která je vidět na gelech, resp. vysvětlení co které proužky na gelech znamenají). Navíc, na obr. 16 je pravděpodobně chyba u označení gelů D a F, kde bych očekával označení ID2/DNA a ne I/DNA. Dále tab. 9 popisuje vazebné konstanty proteinu FANCI na DNA, ovšem jsou uvedeny pouze hodnoty pro mutantní formu 2D3A. Proč nejsou uvedeny i hodnoty pro další proteiny, není v textu uvedeno. V metodické části autorka píše, že optimální koncentrace soli (tzn. NaCl) pro monoubiquitylační reakce je 50 mM, ale dále o tom není ve výsledkové části ani slova, s touto koncentrací nepracuje. Očekával bych např. uvedení vazebné konstanty při této koncentraci NaCl. Bez dalšího komentáře **jsou nesrozumitelné i obr. 20 a 24** (co má čtenář na obrázku vidět?) V textu se nachází i nepřesná označení, či odkazy na informace, které nebyly podány (str. 18 monoubiquitylace proteinu FANCD2 je silně stimulována vazbou na DNA, zde navíc chybí i citace). V textu lze nalézt také nesourodost používaných označení heterodimerního komplexu ID2 (ID2 vs. I:D2).

V diskusi autorka popisuje možné chyby, což zde má snad i své místo, ale zcela nediskutuje výsledky s literaturou: v celé diskusi **není uveden ani jeden odkaz na odbornou literaturu**. Pokud snad byla tato studie natolik novátorská, tak to mělo být zmíněno. V první části autorka vyjmenovává možné chyby, díky nimž nebyl objeven žádný trend v studované závislosti, aby však v zápětí oznámila, že fosforylace nemá vliv na vazbu na DNA, což získané výsledky potvrzují.

**ad 4.** Jazyk práce není příliš dobrý. V textu jsou časté **anglicismy** (DNA vazebný test, S fáze buněčného cyklu, western blot) a **stylistické neobratnosti** (Rovněž deubiquitylace FANCD2 probíhá... a je nutná pro správnou funkci této dráhy; v i bez přítomnosti). **Nakládání autorky se zkratkami je rovněž velice nešťastné.** Chápu, že text na toto téma lze jen obtížně napsat bez všech označení kinas a dalších proteinů, ale je nutné to zapsat srozumitelně, aby se čtenář v textu neztrácel. To naneštěstí nebylo splněno. Navíc, autorka uvádí zkratky, které dále nepoužívá vůbec nebo používá výjimečně (HBOC, MMC) a dále uvádí **anglické překlady** některých výrazů (např. *foci formation*), které nejsou nutné. Rovněž lze najít i nekonsistenci v pravopise (autosomální vs. chromozomální). Jako nevhodné hodnotím nadpisy sestávající pouze ze zkratky (kap. 1.4.1 FANCD2, kap. 1.4.2 FANCI, kap. 1.4.8 Vazba FANCD2 a FANCI na DNA). Na druhou stranu výskyt laboratorní hantýrky je výjimečný.

**ad 5.** Zde bych autorce vytkl **nekonsistenci v užívaných fontech a velikosti písma** textu. Obsah je v jiném fontu než zbytek textu. kap. 3 je v napsaná s menší velikostí písma než ostatní a některé tabulky jsou uvedeny v jednom a některé v jiném fontu písma. Překlepů se však v textu vyskytuje opravdu málo, zato chyby se vyskytují ve správném psaní písmenných lokantů v chemických vzorcích, které bývá zvykem psát v kursivě.

I přes výše uvedené nedostatky, které připisuji spíše nezkušenosti studentky, se domnívám, že práce zpracovává zajímavé téma a že autorka udělala velký kus práce ve své experimentální části. Musela připravit řadu rekombinantních proteinů a musela se seznámit s řadou speciálních, nejen molekulárně biologických metod. Právě **praktickou část oceňuji nejvíce.** Proto předkládanou diplomovou práci hodnotím celkově kladně a **doporučuji ji k obhajobě.** Nicméně, doporučuji autorce, aby si při psaní další odborné práce dala více záležet na presentaci získaných výsledků, protože to je hlavní kámen úrazu této práce.

## B. Obhajoba

### *Dotazy k obhajobě*

1. Ve své práci se zaměřujete na studium regulace opravné dráhy Fanconioho anemie, která je jedním ze způsobů opravy meziřetězcových spojení. Mohla byste jmenovat a i další mechanismy, jimiž jsou taková poškození v organismu opravována? Jak se liší od Vámi studované dráhy?
2. V práci neuvádíte, jak byla stanovena koncentrace rekombinantních proteinů, které jste připravila. Nicméně, pak uvádíte jejich množství při vlastním testování. Mohla byste říci, jakým způsobem byla koncentrace připravených proteinů určena? Jaké byly výtěžky přípravy těchto proteinů?
3. V kapitole 1.4.4 uvádíte, že kinasa ATM hraje koordinační úlohu při buněčné odpovědi na tvorbu disulfidických můstků v DNA. Mohla byste, prosím, osvětlit, jak a kde ke vzniku disulfidických vazeb v DNA dochází?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **JE** / **NENÍ** (zakroužkujte) podmínkou přijetí práce  
- bude záviset na rozhodnutí komise

## C. Celkový návrh

Navrhovaná celková klasifikace: **dobře**

Datum vypracování posudku: 10. května 2019

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): RNDr. František Bárta, Ph.D.