



**Biofizikální ústav, v.v.i.**  
Akademie věd České republiky  
**doc. RNDr. Eduard Kejnovský, CSc.**  
Oddělení vývojové genetiky rostlin  
Královopolská 135, 612 00 Brno  
tel. 541 517 203, fax: 541 240 500  
e-mail: kejnovsk@ibp.cz  
<http://www.ibp.cz/cs/>

---

### Oponentský posudek na dizertaci **Mgr. Dalibora Miklíka** s názvem „**Distribuce míst integrace exprimovaných provirů**“

Psychologové radí začínat pochvalou a až poté přistoupit ke kritice. Pokusím se tomu pravidlu vyhovět, i když pochvala i kritika se v mém posudku budou prolínat. Nejprve bych chtěl vyzvednout nádherné, atraktivní a aktuální téma, které si doktorand zvolil. Tomu odpovídá velmi pěkný úvod, který uvádí, ba přímo vtahuje čtenáře do vzrušujícího světa retrovirů. Následují stejně podrobně pojaté metody, které snad i navzdory své roztržitosti poskytnou dalším studentů podklad pro případné pokračování.

Výsledky (35 stran) jsou rozděleny do čtyř kapitol. Text je bohužel hutný, plný zkratk, těžko srozumitelný, věty ne vždy správně navazují, takže plynulé čtení je občas obtížné. Každého oponenta by asi navíc znechutilo i mnoho nedokončených vět (např. str 16, 47, 48, 67, 68, 69), kdy jakoby pisatele něco vyrušilo a pak už text po sobě ani nepřečetl. Rád bych věřil, že autor nepřístupovat stejně nepečlivě jako k textu také k experimentům a analýzám. Text je vhodně doplněn mnoha obrázky (ale třeba u obr 4 na str.25 není citace zdroje). Obrázků je hodně, což by bylo příjemné, pokud by se v nich snadněji orientovalo, některé podobrázky jsou tak drobné, že lze jen obtížně přečíst, co je na osách. Popisky obrázků nejsou samonosné (self-explaining). V případě některých obrázků jsem v textu nenašel popis toho, co ukazují a co z nich vyplývá. Abych uvedl příklady: nebylo mi jasné, jaký je rozdíl mezi absolutní a relativní vzdáleností proviru a začátku transkripce (TSS, Fig.10). Proč je například tato vzdálenost 10kb u randomizovaných inzercí? Na str. 68 se mluví o GMRC a odkazuje se na Fig.22, ale tam je MRC. GMRC je až na Fig.23. Jaký je rozdíl mezi MRC, GMRC, EGMRC, AGMRC? Hlavní záchranou pro mě byl vždy shrnující a relativně srozumitelný odstavec na konci každé kapitoly výsledků.

Také nebylo jasné, zda autor prováděl jak experimenty, tak i analýzy, pokud dělal obojí, tak to velmi oceňuji. Také jsem nikde nenašel zmínku, zda některé z prezentovaných výsledků byly již publikovány. Přitom se jedná o velice zajímavá zjištění, i když některé podobné výsledky byly předmětem jiných publikací. Oceňuji kapitolu Conclusions, které je velmi pěkně napsaná a za ní se nachází i kvalitní diskuse.

I navzdory mé kritice **dizertace jasně demonstruje**, že doktorand nejen úspěšně použil řadu klasických genomických metod, ale že také prostudoval značné množství relevantní literatury týkající se života retrovirů, jejich struktury, exprese, integrace.

Dovolil bych si uchazeči **položít pár** (spíše obecnějších) **otázek**, jako základ pro diskusi, která k důstojné obhajobě doktorské práce zajisté patří:

**1.** Jaká je situace ohledně integrace vzhledem k expresi, TSS, enhancerům a epigenetickým značkám u endogenních retrovirů (HERV)? Pokud dochází k targetingu do blízkosti TSS, jsou pak starší inzerce dále od TSS? Nebo naopak selekce vede k přibližování inzercí k TSS? Jaká je případná úloha obsahu bází (base composition)?

**2.** Lze rozlišit vliv selekce a targetingu? Dalo by se to udělat pomocí stanovení stáří retrovirů (pomocí divergence LTR), kdy by poloha mladých odrážela targetingu zatímco poloha starých byla výsledkem působení jak targetingu, tak i selekce. Jak by se dalo (mechanisticky) vysvětlit, že u ASLV jsou proviry poblíž TSS v důsledku selekce a u HIV-1 v důsledku targetingu (viz str. 67)?

**3.** Uvádíte, že gag gen (str. 73) způsobuje toxicitu HIV-1 u T-buněk. Co je příčinou tohoto jevu?

**4.** Jakou výhodu má integrace retrovirů do enhancerů, když jsou často i daleko od transkripčních jednotek? Nebo to platí jen pro enhancery nacházející se uvnitř transkripčních jednotek (TU)? Jakou roli by případně vzdálenost enhanceru od TSS mohla hrát ve frekvenci integrace?

**Závěrem musím konstatovat**, že celkově hodnotím dizertační práci Mgr. Dalibora Miklíka jako zdařilou. Doktorand získal značné množství zajímavých výsledků. Dizertace splňuje požadavky kladené na dizertační práci v oboru Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie.

Brno, 1. srpna, 2019

Eduard Kejnovský