

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele: RNDr. Martina Saláková, Ph.D.

Datum: 2.7.2020

Autor: Bc. Pavel Dostálík

Název práce:

Role acetylace proteinů v životním cyklu Polyomavirů

Cíle práce

Diplomová práce se zabývá studiem acetylací kapsidových proteinů myšího polyomaviru, sleduje míru acetylace virových proteinů, vliv na stabilitu a na efektivitu infekce viru.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran): 108

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova? ANO

Je uveden seznam zkratk? ANO, některé zkratky chybí

Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO

Je napsán srozumitelně? ANO, s drobnou výhradou ke kapitole 2.9. viz připomínky

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO

Literární přehled je zpracován velmi podrobně, autor zpracoval velké množství publikací do přehledného a komplexního úvodu.

Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito? Dostatečně pro dosažení daných cílů diplomové práce

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO, s drobnými výhradami viz připomínky

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO

Výsledky by mohly být statisticky zhodnoceny, např. v případě poklesu VP1 v pokusu s cyklohexamidem, zda je rozdíl wt VP3 a mut VP3 signifikantně rozdílný.

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO

Diskusi tvoří téměř 6 stránek textu, autor diskutuje všechny aspekty své práce, předkládá dostatek argumentů k vlastním výsledkům, porovnává je s literaturou, porovnává další modifikace virových proteinů.

Závěry (Souhrn)

Jsou výstižné? ANO

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

První obrázek (obr. č.9) ukazující detekci acetylovaného lysinu VP1 je dostatečně kvalitní, velký, jednotlivé proužky jsou jasně ohraničené. Další obrázky (č. 11 a 14) ukazující taktéž acetylaci lyzinu jsou pak slabé, proužky rozmazané a objevuje se tam další proužek o velikosti přibližně 48kDa.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Autor splnil všechny své stanovené cíle. A i přes uvedené připomínky považuji předloženou diplomovou práci za velmi zdařilou, s celou řadou výsledků, které vedly k zodpovězení stanovených cílů a které jsou velmi pěkně a podrobně diskutované.

Diplomová práce určitě splňuje požadavky kladené na diplomovou práci. Doporučuji práci k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:

Připomínky:

Kapitola 2.9 popisující Posttranslační modifikace je trochu nepřehledná (např, fosforylace serinů a treoninů, jednou je serin v pozici 63, jednou treonin). Můžete ukázat přehlednou tabulku jednotlivých izoform VP1, jejich zastoupení a jejich posttranslačních modifikací?

V této kapitole a ani nikde jinde není uvedeno, kde dochází či může docházet k acetylaci VP1 (monomerní forma VP1 vers. forma označovaná jako hyperacetylovaná)

Na str. 18 popisujete dva jaderné lokalizační signály RK1 a RK2 u lidské HDAC6, kde se přesně nachází? Na obrázku č.7 jsou pouze NLS a NES domény. Jaká je mezi RK a NLS/NES souvislost? Dále jsou na str. 18 deacetylační domény označeny HD1 s HD2, na obrázku jsou pak DD1 a DD2. Bylo by i pro čtenáře lepší dát obrázek celého proteinu hned k popisu jeho domén ne až na str.24.

Zkratka OSCC neznačí primární nádorové buňky, jak je uvedeno na str. 28. Primární buňky jsou nenádorové buňky, OSCC - oral squamous cell carcinoma, jsou nádory vniklé z dlaždicového epitelu dutiny ústní a jsou označovány jako dlaždicobuněčné, spinocelulární, skvamocelulární, nebo skvamózní karcinomy

V přehledech použitého materiálu nejsou uvedeny všechny buněčné linie, viry a plazmidové konstrukty, s kterými autor v diplomové práci pracoval. Kapitola 4.12 a 4.13 je obsahově totožná. V práci není přesně uvedeno, kdy byla použita polyklonální protilátka proti dVP1 a VP1

V diplomové práci nemáte uvedeny mapy plazmidů. Jaký je rozdíl v expresi strukturních proteinů z plazmidu pMJG a pMJG-LATE? Proč se pro analýzu N-terminální acetylce VP3 v WOP buňkách s expresí LTag použil plazmid pMJG-LATE?

Označení mutované formy VP3 proteinu A117V považuji za zavádějící. Přepokládám, že vzhledem ke studiu N-terminální acetylce, k mutaci nedošlo v pozici 117 VP3 proteinu.

Otázky:

Jak je regulovaná exprese VP1 a VP2/3 kapsidových proteinů? Je poměr exprese kapsidových proteinů VP1 a VP2/3 podobný jejich zastoupení ve viru?

Protein HDAC6 obsahuje 2 deacetylační domény, mají obě stejné funkce, spolupracují spolu nebo interagují a deacetylují různé proteiny?

Jak je v buňce regulovaná funkce HDAC6? Mohl by polyomavirus ovlivňovat funkci HDAC6? (u HPV byl publikovaný jeden článek o roli E6 a p53/miR-22)

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: