

Oponentský posudek na dizertační práci Kristýny Poncové

Disertační práce Kristýny Poncové s názvem „Úloha *eIF3* a *Rps3* v pročitání stop kodonu“ byla vypracována v „Laboratoři regulace genové exprese“ vedené dr. Valáškem. Tato práce se z větší části zabývá rolí ribosomálního proteinu RPS3 v terminaci translace, respektive jeho rolí v pročitání stop kodonů. Celá práce je napsána ve slušné angličtině. Výsledkově je dizertační práce založena na třech publikacích, z toho jedné prvoautorské. Všechny tři publikace jsou ve vysokoimpaktivních časopisech (2x *Nucleic Acid Research*, včetně publikace prvoautorské; 1x *RNA Biology*). Mimoto je autorka uvedena jako spoluvůrce dalších dvou impaktovaných publikací, pravděpodobně z dob jejího magisterského studia, které se ovšem nevztahují k tématu řešené práce. Tato disertační práce je předložena v tzv. dlouhé variantě a obsahuje všechny nezbytné náležitosti prací toho typu, tj. literární úvod, použitá metodika včetně použitého materiálu vlastní výsledky a diskusi.

Literární úvod je přiměřeně obsáhlý a vcelku pěkně a čtivě uvádí čtenáře do studované problematiky. Autorka se v úvodu věnuje nejdříve popisu stavby a struktury ribosomu se zaměřením na 40S podjednotku s následným popisem eukaryotické translace, tomto případě se zvláštním zaměřením na terminaci a hlavně na fenomén pročtení stop kodonů a v neposlední řadě na charakterizaci ribosomálního proteinu RPS3. Cíle vlastní experimentální práce jsou jasně definovány, jejich většina se točí právě okolo charakterizace role ribosomálního proteinu RPS3 na efektivitu terminace translace, na stanovení konkrétních aminokyselinových zbytků účastnících se terminace translace a také na analýzu složení pre-terminačních 80S komplexů v kmenech s různě mutovanými variantami ribosomálního proteinu RPS3. V kapitole Materiál a metody jsou uvedeny všechny nezbytné přístroje, chemikálie a metodické postupy použité při řešení této disertační práce. Je zde také uveden soupis použitých a vytvořených kvasinkových kmenů a také seznam vytvořených plasmidů; oba tyto seznamy jsou velmi obsáhlé a částečně charakterizují množství vykonané práce. Drobnou výtka budiž to, že by bylo o poznání lepší tyto seznamy řadit dle abecedy, což by oponentovi podstatně zjednodušilo práci.

Výsledková část předkládané disertační práce je zcela logicky z velké části postavena na prvoautorské publikaci Kristýny Poncové (*uS3/Rps3 controls fidelity of translation termination and programmed stop codon readthrough in co-operation with eIF3*, 2019) ve které autoři detailněji charakterizují různé mutanty ribosomálního proteinu RPS3 co do schopnosti ovlivňovat pročtení stop kodonů, včetně charakterizace aminokyselinových zbytků hrajících esenciální roli v tomto procesu. Nedílnou součástí této publikace je také zpřesnění interakce zkoumaného proteinu RPS3 a jednoho z jeho interakčních partnerů, a/Tif32, který také ovlivňuje schopnost pročitání stop kodonů a charakterizace těchto interakcí v případě mutací zavedených do proteinu RPS3. Poslední částí týkající se charakterizace schopnosti ribosomu pročit stop kodon je stanovení zastoupení jednotlivých složek pre-terminačního komplexu 80S v případě přítomnosti různě mutovaných ribosomálních proteinů RPS3.

Z formálního hlediska bych si dovolil konstatovat, že by práci jako takové prospělo ještě jedno čtení neboť se v práci občas vyskytují drobné nedostatky částečně narušující jinak dobrý dojem. Jedná se zejména o občasné nepoužívání kurzivy v případě latinských názvů (str. 26), občas se v textu vyskytne svislá čára (str. 99 a jiné), občas přebývá tečka či se naopak nedostává mezery mezi slovy či znaky. Alespoň z mého pohledu by bylo také vhodné některé z obrázků lépe popsat, zejména u obrázků charakterizující frekvenci pročitání stop kodonů mne vcelku dlouho mátló číslo uvedené v procentech umístěné nad některými sloupci.

Text celé disertační práce včetně příložených článků mne přivádí na následující otázky či komentáře, které jsou vzhledem k tomu, že podstatná část předkládané disertační práce již prošla recenzním řízením v renomovaném časopise, spíše návrhem k diskusi či zamyšlení:

1/ V tabulce 2 (strana 87) není uvedena charakteristika mutanta [rps3-153], o které se pojednává v následující kapitole.

2/ Jakým způsobem definujete a jak případně kvantifikujete „*slow grow*“ fenotyp? Přejde mi, že tento typ fenotypu vykazuje také mutanta [a/tif32-box32] (strana 91, obrázek 16) ač jí to v textu práce upíráte.

3/ Příliš bych nepoužíval výraz prokaryota, který v sobě zahrnoval jak bakterie tak *archea*, které jsou v mnoha ohledech, včetně například komponent translačního aparátu, spíše podobná eukaryotům.

4/ Velmi mne zaujal koncept specializovaných ribozomů, tj. ribozomů postrádajících konkrétní ribosomální protein (či proteiny) a následně translatující pouze určité skupiny mRNA molekul. Jaký je Váš názor na tuto možnost regulace genové exprese?

Kapitola diskuse se napsána přehledně a srozumitelně, shrnuje celou autorčinu práci na tomto projektu. Předkladatelka diskutuje získaná data s literárními zdroji. Možná by nebylo špatné uvést nějaký podrobnější výhled do budoucna, teda autorčin názor jakým směrem by se řešení této problematiky mohla či mělo ubírat.

Navzdory všem minoritním výhradám či výtkám, doporučuji přijmout jakožto součást disertačního řízení a doporučuji tuto práci k obhajobě.

V Praze, 4. 6. 2020

Václav Vopálenský