

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele: RNDr. Martina Saláková, Ph.D

Datum: 21.5.2021

Autor: Bc. Štěpánka Vlachová

Název práce:

Role histon deacetylázy 6 v replikačním cyklu myšího polyomaviru

Cíle práce

Diplomová práce má dva hlavní cíle. Prvním cílem bylo zjistit vliv HDAC6 na infekci buněk polyomaviry, jak delece a inhibice proteinu ovlivňuje průběh virové infekce a které funkční domény jsou důležitější pro efektivitu infekce. Druhým cílem bylo připravit rekombinantní plazmidy exprimující T antigen BK polyomaviru a myšího polyomaviru a buněčnou linii RPTEC/hTERT1 s deletovaným genem pro HDAC6 pro další studium role HDAC6.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran): 99

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova? ANO

Je uveden seznam zkratk? ANO

Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO

Je napsán srozumitelně? ANO

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 velmi dobře zpracován a zahrnuje aktuální poznatky. Připomínku mám pouze k použitému termínu „agregozómu“. Je to správné pojmenování z anglického „aggresome“?

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

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO

Pouze opačné zbarvení sloupců 3T3-BUZ a 3T3-CD na obrázcích 22/25 a 23/24 ztěžuje orientaci ve výsledcích a porovnání různých experimentů.

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky?

ANO

Ve všech případech bylo provedeno více stanovení, je proto velká škoda, že výsledky nebyly statisticky zhodnoceny.

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? NE

Některé věty v diskusi jsou zbytečně dlouhé a je tak složitější pochopit jejich smysl.

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ANO

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

Dobrá jazyková úroveň, text s minimem překlepů, velmi pěkná grafická úroveň.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Stanovené cíle diplomové práce byly splněny. V první části provedla autorka všechny pokusy, které byly naplánované k zodpovězení otázky vlivu HDAC6 na časné a pozdní fáze replikačního cyklu MPyV. Autorka také hodnotila vliv obou hlavních domén HDAC6 zodpovědných za deacetylaci a vazbu ubiquitinu. Autorka se dobře zhostila nelehkého úkolu diskutovat výsledky první části. V druhé části byly připraveny plazmidy s geny pro T antigen MPyV a BKPyV a byla ověřena produkce LT antigenu. V závěru práce autorka také připravila několik nadějných buněčných linií RPTEC/hTERT1 s Δ HDAC6, které produkují více acetylovaných tubulinů, buňky však musí být ještě ověřeny sekvenací/qPCR. Diplomová práce splňuje požadavky kladené na diplomovou práci. Doporučuji práci k obhajobě

Otázky a připomínky oponenta:

V druhém odstavci kapitoly 2.1.3.1 je zmíněn transport z jaderné membrány do endoplazmatického retikula. O jaký transport se jedná?

Na str. 44 píšete „Tyto koncentrace inhibitoru signifikantně zvyšovaly hladinu acetylovaného tubulinu. Jak vypadá statistické hodnocení?“

Ve své práci používáte různé množství viru pro infekce buněk, MOI 0,3 při inhibici 3T6 buněk tubacinem; 1 pro 3T3 buňky a 10 pro buňky na 6-ti jamkové destičce. Jaký byl důvod použití takto rozdílných MOI?

Jak je to s virovou interferencí u polyomavirů?

Ve všech grafech jsou ukázány relativní hodnoty, jaké je reálné množství buněk s detekovaným LT antigenem? Kolik buněk bylo infikováno v kontrolní buněčné linii a kolik v testované linii?

Na str. 63 je věta „Vzhledem k rozdílné rychlosti růstu buněčných linií byl počet infikovaných buněk vztažen k celkovému počtu“. Jak tedy byli hodnoceni předchozí

výsledky nepřímé imunofluorescence?

Když byl rozdílný růst u buněk 3T3-BUZ, 3T3-CD i 3T3-WT-r, jak to bylo v porovnání 3T3-WT a buněčné linie 3T3- Δ HDAC6?

Kam se přesně váže tubacin? Jak může inhibovat všechny funkční domény HDAC6?

Jaký je rozdíl mezi buněčnou linií NIH 3T3 a NIH 3T6?

Máte nějakou hypotézu či návrhy pro studium role HDAC6 v transformaci buněk indukované polyomaviry? Jak se může HDAC6 podílet na této transformaci?

U úvodu své práce jste zmínila různou velikost nekódující regulační oblasti i u MPyV. Jak jsou tyto delece/duplikace v regulační oblasti běžné a jaké duplikace/delece vedou ke zvýšenému nádorovému potenciálu a jaké ke změně tkáňového tropismu?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: