

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele: Ing. Helena Zábranská, PhD.

Datum: 3. 9. 2021

Autor: Bc. Martin Trávníček

Název práce: Determinanty fúzogenicity Syncytinu-1, buněčného glykoproteinu retrovirového původu

Cíle práce

vytvoření a optimalizování nové eseje, která by umožnila specifickou a rychlou kvantifikaci buněčných fúzí bez nutnosti mikroskopické analýzy
stanovení fúzogenicity Syncytinu-1 s mutacemi v doménách souvisejících s fúzogenními vlastnostmi proteinu
stanovení fúzogenicity mutant Syncytinu-1 se zkrácenou intracytoplazmatickou částí,
stanovení vlivu Suppressynu na fúzogenní potenciál Syncytinu-1,
stanovení interakce Syncytinu-1 s delečními mutantami druhé extracelulární domény receptoru ASCT2

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran): 90

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

Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito?

Autor použil ve své diplomové práci řadu biochemických a molekulárně biologických metod od klonování a manipulace s DNA, přes práci s tkáňovými kulturami (transfekce buněčných linií připravenými DNA vektory, příprava retrovirových částic, transdukce buněk) až po vyhodnocení experimentů pomocí luciferázové eseje, fluorescenční mikroskopie či průtokové cytometrie.

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky?

ANO

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

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ANO

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

Práce je svým rozsahem, množstvím použitých technik i zpracováním výsledků velmi kvalitní. Je psána česky s minimem anglickanismů, jazyková úroveň je velmi dobrá. Grafické zpracování dat je dostatečně přehledné.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Diplomová práce zavádí novou, elegantní metodu kvantifikace buněčných fúzí využívající oddělenou expresi fragmentů luciferázy ve fúzně kompetentních buňkách produkujících buď Syncytin-1 nebo jeho receptor ASCT2. S využitím této metody autor dále stanovil fúzogenicitu mutant Syncytinu-1, vliv Supressynu na fúzogenní vlastnosti Syncytinu-1 a charakterizoval deleční mutanty receptoru ASCT2 vzhledem ke schopnosti vázat Syncytin-1. Část výsledků diplomové práce je zahrnuta v publikaci: Štafl K, Trávníček M, Kučerová D, Pecnová L, Krchlíková V, Gáliková E, Stepanets V, Hejnar J, Trejbalová K. 2021. Heterologous avian system for quantitative analysis of Syncytin-1 interaction with ASCT2 receptor. *Retrovirology* 18: 15., což potvrzuje kvalitu předložených dat. Stanovené cíle práce byly splněny.

Otázky a připomínky oponenta:**A) Připomínky:**

- 1) Jak již bylo zmíněno, jazyková úroveň předložené diplomové práce je velmi vysoká, text je plynulý a dobře srozumitelný. Na několika místech je ovšem čtenář vyrušen vynechaným slovem, jako např. v kapitole 2.3.5 cit.: „Fúzní peptid po je zodpovědný za penetraci cílové membrány buňky,“ Je myšleno po svém obnažení? Či v kap. 2.5.2 cit.:“ Mezi regulátory placentárních buněčných patří také protein Suppressyn,“ Je myšleno buněčných fúzí?
- 2) U mikroskopických snímků chybí pro lepší orientaci měřítko.

B) Otázky:

- 1) Při klonování genů pro Syncytin-1 i Suppressyn byla sekvence původního signálního peptidu u obou proteinů nahrazena signální sekvencí z AVL. Jak se liší požadavky na signální peptid u savčích a kuřecích buněk? Pokud je hybridní Syncytin-1 transportován k membráně pouze u max. 20 % buněk, je známo, jak by se změnila účinnost transportu u proteinu s wt sekvencí? Stejně tak Supressyn exprimovaný v kotransfekovaných buňkách společně se Syncitimen-1 neměl na buněčné fúze žádný vliv na rozdíl od Supressynu přidaného do média, který fúze účinně inhiboval. Jaká je účinnost sekrece hybridního Supressynu v porovnání s wt sekvencí?

2) V kap. 5.1 autor píše: „Obě podjednotky Syncytinu-1 následně zůstávají spojené pouze pomocí disulfidických můstků, což po silné interakci mezi SU a receptorem ASCT2 zajistí snadnou disociaci SU z komplexu a odhalení fúzního peptidu na volném N-konci TM.“ Jakým mechanismem tato redukce S-S vazeb probíhá? Změní se redoxní potenciál po navázání na receptor, či je zahrnuta asistence některé buněčné oxidoreduktázy?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: