

Oponentský posudek disertační práce **Mgr. Ivany Frýdlové**

Phenotypes of *Saccharomyces cerevisiae* cells lacking Isw2 chromatin remodelling factor

Disertační práce se zabývá vysoce aktuální vědeckou problematikou, kterou je studium faktorů ovlivňujících regulaci transkripce eukaryotních buněk. Výběr tematiky disertace, spolu s velmi elegantním přístupem vhodně kombinujícím moderní molekulární biologické, biochemické a klasické mikrobiologické přístupy vedl k získání celé řady původních, a místy i nečekaných, výsledků, které značně rozšířily naše znalosti o úloze některých buněčných faktorů ovlivňujících strukturu chromatinu. O kvalitě získaných výsledků svědčí i čtyři publikace v mezinárodních časopisech, z nichž ve dvou je Mgr. Frýdlová první autorkou.

Předkládaná práce sice není rozsáhlá, obsahuje však poměrně podrobný přehled současného stavu poznání dané problematiky, spolu s celou řadou vhodně zvolených citací. Přehledně je popsána nejen úloha chromatin remodelujících faktorů s důrazem na studovaný komplex ISWI, ale i buněčné pochody (signální dráhy a polarita pučení kvasinkových buněk), jejichž souvislost s tématem disertace vyplynula v průběhu experimentální práce.

Dotaz k první části práce:

1) *Proč autorka v přehledu signálních drah vynechala dráhu HOG? Víím, že se jí také v průběhu studia věnovala, jistě ji zná velmi dobře a domnívám se, že dnes již jsou známy práce prokazující její provázanost s popsávanými signálními dráhami, např. CWI.*

Druhou část tvoří přehled jasně definovaných cílů práce, a na něj navazuje obvyklá část Materiál a metody. Tato část dokumentuje velkou šíři metodického záběru Mgr. Frýdlové. Použitý materiál metody jsou vzorně a bezchybně popsány, snad jen leckde chybí citace na původní práce popisující použitý postup a někdy je pro disertační práci metodika popsána až příliš podrobně (např. štěpení DNA restrikcími enzymy, elektroforesa fragmentů DNA). Z celé řady náročných technik bych chtěla vyzvednout sledování expresních změn celého genomu a zvláště velmi vhodné zvolení podmínek těchto experimentů, které bylo přesně směřováno ke splnění cílů předkládané práce.

Kapitolu výsledky pokládám za nejlepší z celé práce. Je velmi přehledně, stručně a logicky napsána, příklady získaných výsledků na obrázcích jsou velmi vhodně zvoleny. Na tuto kapitolu navazuje stručná, nicméně velmi hodnotná diskuse zasazující získané výsledky do širšího kontextu. Přehled výsledků na závěr práce přesvědčivě ukazuje, že vytyčené cíle byly více než splněny.

Několik dotazů k části popisující výsledky a jejich význam:

2) *Existuje nějaké vysvětlení, proč byl gen MET3 aktivován, zatímco exprese dalších genů MET byla snížena (str. 67)?*

3) *Je jasné, jak byla prováděna selekce diploidů vzniklých křížením *isw2::HIS3* a *isw2::LEU2*, ale není příliš jasné, jak byly selektovány diploidy vzniklé křížením s *BY4742* (str. 72).*

4) *Obr. 5.15 a text na str. 78 mně není příliš jasný. Předpokládáte, že *KSS1* je v kmenech *BY4741(2)* funkční, přestože se jedná o kmeny odvozené od *S288C*, u kterého zmiňujete nefunkční alelu tohoto genu?*

5) *Máte nějakou hypotézu/názor, proč fenotypy delece druhého proteinu komplexu *ISWI*, *ITC1*, jsou natolik odlišné od fenotypů delece *ISW2* (růst na *EtOH* či glycerolu, vzhled buněk, vyšší produkce α -faktoru)? Částečně je to zmíněno v diskusi o invazivním růstu na str. 93, nicméně, je např. možné, že *Itc1p* funguje i mimo komplex, tedy nezávisle na *Isw2p*?*

Mé otázky jsou námětem k diskusi a neměly by ubírat na celkové kvalitě předkládané práce. Autorka přistupovala k řešenému problému dobře teoreticky vybavena, byla schopna cíleně využívat celou řadu metod a získat v dané problematice mnoho nových poznatků. Znovu opakuji, že práce je napsána velmi kvalitně, nepatrné množství drobných nedostatků, nepřesností a opomenutí, které jsem našla v textu práce, je uvedeno v příloze. Jedinou drobnou výhradu bych měla ke zpracování české verze autoreferátu, která zdaleka nedosahuje kvality samotné disertační práce, nicméně i obě verze autoreferátu splňují předepsané podmínky a ukazují, že autorka během doktorského studia dosáhla i řady dalších významných výsledků, které v předkládané práci nejsou obsaženy.

Závěrem mohu konstatovat, že podle mého názoru Mgr. Ivana Frýdlová plně prokázala své schopnosti k samostatné tvořivé vědecké práci v oblasti výzkumu a vývoje dle § 47, odst. 4 zákona č. 111/1998 Sb., a tudíž doporučuji její disertační práci k obhajobě.

V Praze 10. července 2009

RNDr. Hana Sychrová, DrSc.

Fyziologický ústav AV ČR Praha

Příloha k posudku disertační práce Mgr. I. Frýdlové:

Drobné překlepy a nesrovnalosti:

Str. 7 - eukaryote

Str. 8 – packed vs. packaged

Str. 14 a dále – nejednotnost v užívání názvosloví, např. Mcm1p

Str. 39 – proč u některých firem uvedena země a u některých ne (např. NEB vs. Fermentas)

Bylo by vhodné stejné systematické označení genů v tabulkách 5.2 a 5.3 (jednou malými, jednou velkými písmeny) a také stejné značení změn exprese (jednou v %, jednou v násobcích)

Str. 86 - v popisu obr. 5.23 by mělo být vysvětlení, co je A – E, podobně jako je to u obr. 5.24 nebo 5.25

Chybí důkladnější redakce citací na konci disertace, např. EMBO J, velká písmena v názvu některých článků, latinské názvy organismů proložené atd.