

Oponentský posudek

Student: Mgr. Jana Nejepínská (UK v Praze, Přírodovědecká fakulta)

Téma disertační práce: “The effects of long-double-stranded RNA expression in mammalian cells”

Disertační práce Mgr. Jany Nejepínské je velice zdařilá a bylo mi potěšením ji prostudovat. Z formálního hlediska se tato disertační práce skládá ze souboru pěti publikací (dvě prvoautorské práce v mezinárodních časopisech s recenzním řízením a tři příspěvků v odborných knihách) a dvou dalších rukopisů toho času v recenzním řízení. Disertační práce dále obsahuje úvodní komentář v rozsahu 46 stran. Soubor přiložených publikací je velice dobrý a tématicky ucelený.

Tématicky se disertační práce zabývá studiem odpovědi savčích buněk na dlouhé dvouvláknové RNA v kontextu celého organismu a buněčných kultur. Přístup je inovativní v tom, že využívá exprese dvouvláknové RNA v jádře ve formě „mRNA“ s dlouhou vlásenkovou strukturou.

Práce je členěna do krátkých kapitol. Úvod práce shrnuje současný stav poznání studovaných mechnismů a fenoménů biologie RNA. Jednotlivé kapitoly poskytují dostatek informací pro zařazení přiložených publikací doktorandky do kontextu současného stavu vědeckého poznání. Doktorandka si ve své práci klade velmi důležité otázky z oblasti biologie RNA a k jejich zodpovězení používá špičkové metody buněčné biologie. Experimentální důkaz existence pervazivní transkripce na plasmidech po tranzientní transfekci považují za velmi důležitý objev, který dokresluje komplexitu transkripce jako takové. Toto zjištění má důležité metodologické implikace a podtrhuje důležitost nezbytných kontrol v transfekčních experimentech. Za překvapivé a důležité také považují zjištění, že exprese dvouvláknové RNA v transgenních myších je dobře tolerována a nepřinesla zjevný fenotyp. Detailnější analýzou bylo zjištěno, že exprese dvouvláknové RNA neaktivuje interferonovou odpověď a pouze minimálně vstupuje do dráhy RNAi v somatických buňkách. Naproti tomu ve vajíčcích způsobovala dvouvláknová RNA významnou hladinu RNA interference. Tyto reprezentativní výsledky velmi dobře dokumentují vysokou vědeckou hodnotu této práce, která není třeba podrobněji komentovat, protože práce prošly přísným mezinárodním oponentním řízením ve vědeckých časopisech.

Dotazy oponenta k obhajobě disertační práce:

1. Proč si doktorandka myslí, že dvouvláknová RNA je v buňce cizorodá molekula? Studentka sama přeci zjistila, že transkripce RNA z plasmidů po tranzientní transfekci probíhá v obou směrech a že regulace transkripce není toliko rigorózní jak se předpokládalo. Jak je to tedy s transkripcí genomu buňkách? Je pouze jednosměrná a neprodukuje dvouvláknovou RNA?

2. Může doktorandka navrhnout v kontextu jejích dat a literatury, jak má vypadat dvouvláknová RNA která může aktivovat interferonovou odpověď.

3. Co je přesně myšleno tvrzením „We observed a modest A/G conversion... “ (strana 32)?

4. Na straně 33 doktorandka diskutuje možnost soutěžení ADARu a DICERu o stejný substrát a naznačuje možnost existence pořadí ve kterém ADAR a DICER procesují dvouvláknovou RNA. Prosím o diskuzi možných scénářů této kompetice o dvouvláknovou RNA.

Závěr

Disertační práce Mgr. Jany Nejepínské, splňuje požadavky standardně kladené na disertační práci v programu Vývojová a buněčná biologie na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze, a práci **doporučuji** k obhajobě.



doc. Mgr. Richard Štefl, Ph.D.
V Brně 18.6.2013