

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky : Bc. Jana Tesařová

Název práce: Role lidské mitochondriální proteázy YME1L v biogenezi systému oxidační fosforylace

A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce (označte právě jednu z možností)

1. Rozsah DP a její členění	
<input checked="" type="radio"/>	A - přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí
<input type="radio"/>	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
<input type="radio"/>	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
<input type="radio"/>	N - nedostatečné

2. Odborná správnost	
<input checked="" type="radio"/>	A - výborná, bez závažnějších připomínek
<input type="radio"/>	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
<input type="radio"/>	C - uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami
<input type="radio"/>	N - nevyhovující, s hrubými chybami

3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů	
<input type="radio"/>	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
<input checked="" type="radio"/>	B - uspokojivé, s občasnými neobratnostmi zejm. v umístění odkazů, nebo s celkově nižším počtem citací
<input type="radio"/>	C - s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, přednášky, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat
<input type="radio"/>	N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)

4. Jazyk práce	
<input type="radio"/>	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
<input checked="" type="radio"/>	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
<input type="radio"/>	C - uspokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
<input type="radio"/>	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

5. Formální a grafická úroveň práce	
<input checked="" type="radio"/>	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
<input type="radio"/>	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
<input type="radio"/>	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo četnějšími drobnými chybami
<input type="radio"/>	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

1. Předkládaná práce má standardní členění a rozsah 80 stran splňuje požadavky na diplomovou práci.
2. Odborná úroveň je nejsilnější stránkou diplomové práce. Její téma je vysoce aktuální, neboť většina dosavadních poznatků o mitochondriálních proteázách je založena na studiích jednobuněčných kvasinkových modelů. Studium funkce savčích ortologů těchto proteáz může přinést překvapivá zjištění vyplývající z rozdílů jak v biogenezi enzymových komplexů oxidační fosforylace, tak především v mitochondriální fyziologii mezi jednobuněčnými a mnohobuněčnými organizmy. Domnívám se, že autorka splnila zadané cíle práce – popsala lokalizaci a membránovou topologii proteázy YME1L, podařilo se jí připravit buněčné linie s výrazně utišenou expresí proteinu, a na tomto modelu odhalit pravděpodobné proteinové substráty studované proteázy. Zjištěné rozdíly v proliferaci a citlivosti na apoptotické stimuly mezi kontrolními a utišenými buněčnými liniemi poukazují na důležitou úlohu YME1L v savčích mitochondriích.
3. Práce obsahuje podle mého nadstandardní počet citací, a to na veskrze velmi recentní a relevantní práce, což svědčí o dobré orientovanosti autorky v oboru. Mám jen výhradu k umístění citací na použité metodické postupy – většinou se nacházejí až ve výsledkové části, i když bych je očekával už v předcházející metodické části práce. U některých metod příslušné odkazy chybí úplně.
4. Požitek z pročitání odborně zajímavé práce poněkud kazí často neobratné formulace. Především literární úvod trpí poněkud krkolomným překladem informací čerpaných z citovaných zdrojů.
5. V práci se sice několik překlepů vyskytuje, přesto tuto část hodnotím výborně vzhledem k vynikající úrovni úpravy obrázků ve výsledkové části.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

1. V práci zkoumáte dopad utišení YME1L. Zkoušeli jste i nějaké experimenty po nadexpresi proteázy, případně troufnete si spekulovat, jaký vliv by nadexprese měla na HEK293?
2. Souvisí podle Vás zvýšená citlivost k apoptotickým stimulům u YME1L-utišené linie se zvýšenou hladinou oxidačně poškozených proteinů? Zajímavé by bylo i zkoumat endogenní hladinu apoptotických buněk v kultuře po utišení YME1L – jakou metodou by se toto dalo zjistit?
3. Jaká je velikost lidské monomerní YME1L? Domníváte se, že jsou pozorované vysokomolekulární komplexy obsahující YME1L homomerní nebo heteromerní? Jaké metody byste navrhla pro identifikaci případných interakčních partnerů proteázy?
4. Pozorovaná akumulace Ndufb6 a Cox4 (pravděpodobných substrátů YME1L) po utišení exprese YME1L pomocí WB bylo do určité míry otázkou štěstí, respektive dostupnosti dostatečně rozsáhlého panelu protilátek. Dal by se navrhnout nějaký systematictější proteomický přístup, který by mohl odhalit více akumulovaných proteinů?
5. Z komplexů OxPhos mělo utišení YME1L největší dopad na komplex I. To pokládám za velmi zajímavé, protože proteáza vykazuje velmi vysokou evoluční konzervovanost mezi savci a kvasinkou *S. cerevisiae*. Tam ale komplex I savčího typu zcela chybí. Je to dáno obecně nízkou specifitou proteázy nebo je pro zprostředkování substrátů pro YME1L důležitý nějaký jiný protein, jehož evoluce by mohla lépe kopírovat změny v OxPhos? Znáte nějaký jiný vysoce konzervovaný mitochondriální protein, u kterého by byl takto změněn funkční kontext mezi kvasinkou a savci?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **JE** / **NENÍ** (zakroužkujte) podmínkou přijetí práce

C. Celkový návrh

Práci **doporučuji** k přijetí k dalšímu řízení: **ANO** / **NE**

Navrhovaná celková klasifikace: výborně

Datum vypracování posudku: 8. září 2011

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): Mgr. Petr Pecina, PhD