

## Posudek oponenta na diplomovou práci

<input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: Lucie Cuchalová
	Datum: 31.5.2013
Autor: Lucie Holásková	
Název práce: Příprava kvasinkového systému pro studium lidské iniciace translace	
<b>Cíle práce</b>  Přispět k vytvoření kvasinkových kmenů <i>Saccharomyces cerevisiae</i> cwo4 s humanizovaným eIF4F translačním iniciačním komplexem, zejména pak vytvořit kvasinkový heterologní systém s lidským proteinem eIF4E  Následně u nově vzniklého kmenu deletovat jednotlivě geny <i>TIF4631</i> a <i>TIF4632</i> a vzniklé kmeny předběžně charakterizovat.	
<b>Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému?</b> ANO Rozsah práce (počet stran): 95 Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO Je uveden seznam zkratk? ANO	
<b>Literární přehled:</b> 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	
<b>Materiál a metody:</b> Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO Kolik metod bylo použito 20 Jsou metody srozumitelně popsány? ANO	
<b>Experimentální část:</b> Je vysvětlen cíl experimentů? ANO Je dokumentace výsledků dostačující? ANO Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO	
<b>Diskuze:</b> 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	
<b>Závěry (Souhrn) :</b>  Jsou výstižné? ANO	

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

Práce obsahuje velice pěkně zpracovanou obrazovou dokumentaci, která napomáhá porozumění textu. V práci se často vyskytují drobné neobratnosti způsobené ne zcela přesným překladem anglického textu, drobné chyby ve větných stavbách a překlepy, ale to vše je, věřím, pouze důsledek spojený s počátky při psaní vědecké literatury a věřím tomu, že autorce budou poučením pro budoucí vědeckou práci.

**Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

Autorka si vytyčila za cíl přípravu kvasinkových kmenů *Saccharomyces cerevisie* s lidským *heIF4E* a s delecemi v genech pro *eIF4GI* a *eIF4GII* pro budoucí využití testu inhibitorů *eIF4E/eIF4G* interakce. Sama si připravila deleční kazety a tyto kmeny připravila, následně otestovala a porovnávala s kmeny, kde byly také vydeletovány geny pro *eIF4GI* a *eIF4GII* a kvasinkový *eIF4E* byl vyměněn za *eIF4E* z *Candida albicans*. Delece genů pro *eIF4GI* a *eIF4GII* není jednoduchým procesem a přinesla autorce možnost seznámit se s úskalími molekulární biologie a přinesla jí možnost seznámit se s optimalizací standardních postupů. Práce je členěna klasickým způsobem, literární přehled je přehledný a podrobný a experimentální část je detailně i graficky popsána. Po obsahové stránce se práce jeví chudší, ale jak jsem již výše uvedla, tak autorka se mnohému naučila při úspěšné a dozajista náročné přípravě delečních kmenů. Práci doporučuji a vzhledem k občasným formálním nedostatkům a níže uvedeným faktům navrhuji jako celkové hodnocení: velmi dobrá

**Otázky a připomínky oponenta:**

Autorčina práce se týká procesu iniciace translace. Na začátku v teoretickém úvodu však autorka popisuje zastaralý model, přestože cituje nejnovější literaturu, která shrnuje nové poznatky. Ráda bych požádala, aby přednesla „nový“ model iniciace translace v rámci své prezentace obhajoby diplomové práce. Naopak bych ráda zdůraznila, že autorka popisuje ostatní fakta do velkých detailů, což reflektuje její znalosti a zájem o problematiku.

**Otázky:**

Na straně 22 uvádíte, že delece genu pro *eIF4GI* způsobuje růstový fenotyp a poruchy iniciace translace a naopak delece v genu pro *eIF4GII* nemá vliv na iniciaci translace. Zároveň však píšete, že se obě formy mohou v procesu iniciace translace zastoupit. Uveďte prosím jak delece genu pro *eIF4GI* ovlivnila iniciaci translace a jak si vysvětlujete výše uvedená zjištění.

Kmen *cwo4* nese genomovou mutaci *ade2-1*, která vede k červeným koloniím. Na miskách (obr. 25,26) jsou kolonie s lidským *eIF4E* načervenalé a na obr.35 jsou bílé, tedy s fenotypem, jak si to vysvětlujete?

Ráda bych vás požádala, abyste se vyjádřila k výsledkům testu vlivu delecí genů pro *eIF4GI* a *eIF4GII* na chování při osmotickém stresu. Porovná-li výsledky u obou delecí, tak se mi jasně podezřele rozdílně chovají wt. Naopak při 0,8M koncentraci NaCl vykazuje kmen s delecí genu pro *eIF4GI* růstový fenotyp oproti wt a naproti tomu kmen s delecí genu pro *eIF4GII* vykazuje v porovnání s wt vždy stejný trend. Co si o tom myslíte?

Mohla byste prosím uvést nějaké své návrhy do budoucna tohoto projektu?

Práce obsahuje po formální stránce drobné nedostatky, které zde neuvádím neboť jsem je již osobně prodiskutovala s kandidátkou.

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta: