

Oponentský posudek:

Diplomová práce Anny Valentové s názvem Genetické interakce mutace *PRP45* v *S. cerevisiae*.

Práce má 167 stran a je klasicky členěna do devíti kapitol s názvy Úvod, Literární úvod, Materiál a metody, Výsledky, Diskuze, Závěr, Souhrn, Seznam použité literatury a Příloha. Diplomová práce dále obsahuje seznam zkratk.

Přehled literatury čítající 31 stran má dvě hlavní části. V první části se autorka věnuje popisu kvasinkového proteinu Prp45. Následuje přehled úprav primárních transkriptů u *S. cerevisiae* a podrobný přehled úloh jednotlivých faktorů důležitých pro sestřih mRNA. Logickým pojítkem je zapojení proteinu Prp45 v procesu sestřihu mRNA. První část uzavírá popis průběhu sestřihového cyklu a recyklace sestřihových faktorů. Tato část literárního přehledu je doslova nabitá množstvím informací a poskytuje výborný odrazový můstek pro zbytek diplomové práce. Druhá část literárního přehledu, s poněkud zavádějícím názvem "Modelový organizmus *S. cerevisiae*", se věnuje studiu genetických interakcí a je dostatečným základem pro další pochopení práce. Celkově je kapitola Přehled literatury zdařilá a poskytuje čtenáři dobrý přehled. Literární zdroje jsou bohaté (práce obsahuje více než 180 citací) a jsou správně citovány.

Popis získaných výsledků má více než 60 stran. Autorka našla po UV mutagenезi celkem 41 klonů *S. cerevisiae* vykazujících synteticky letální fenotyp. Spolu s již dříve izolovanými synteticky letálními klony se pokusila o jejich fenotypovou charakterizaci. Vybraných 37 klonů transformovala genomovou knihovnou *S. cerevisiae* pro ověření účinnosti transformace, poté testovala křížením dominantně negativní projev alel u celkem 39 klonů. Vzájemným křížením klonů se je pokusila rozdělit do komplementačních skupin. Transformací mutantních klonů pomocí plazmidu nesoucího divoké alely genů *PRP45*, *ADE3* a *URA3* vyloučila klony vykazující synteticky letální fenotyp s mutacemi *ade3* a *ura3*. K identifikaci neznámých genů použila autorka jednak přímé testování 35 kmenů plazmidy nesoucími alely 13 potenciálně interagujících genů a jednak transformaci 2 vybraných kmenů genomovou knihovnou. Přímým testováním identifikovala šest genů suprimujících synteticky letální fenotyp, pomocí transformace genomovou knihovnou se jí podařilo identifikovat a ověřit další dva geny. U mutované alely interagujícího genu *PRP22* identifikovala tři jednonukleotidové záměny.

Z výše uvedeného výčtu výsledků je patrné, že autorka provedla několik set transformací mutantních kvasinkových kmenů plazmidy, jejichž značnou část musela sama připravit. Z výsledků je patrné, že autorka úspěšně zvládla a rutinně si osvojila hlavní metody molekulární biologie.

Pochvalu si zaslouží také vyčerpávající kapitola Diskuze. Vzhledem k tomu, že jde o diplomovou práci, tak oceňuji didaktický přístup autorky a nevádí mi podrobný popis funkce jednotlivých nalezených genů, který by jiní autoři zřejmě odbyli několika citacemi či v nejlepší případě zařadili do literárního přehledu. Autorčina diskuze má pěknou logickou strukturu a přitom si zachovává čtivost.

Celkově je práce zpracována velice pečlivě, otázky které si čtenář v průběhu čtení práce položí jsou v dalším textu zodpovězeny. Z formálního hlediska nemá práce žádné vážnější nedostatky a obsahuje pouze minimum překlepů. Pouze na několika místech se autorka nevyhnula neobratným formulacím (např. str. 130: Vazba k DNA nebo duplexu nukleových kyselin byla prokázána slabě).

Připomínky:

Práce postrádá krátkou anotaci v anglickém jazyce a seznam klíčových slov.

V práci chybí jasně popsané cíle, resp. čtenář je musí hledat na různých místech textu (až v kap. Diskuze na str. 129 a částečně v kap. Výsledky na str. 68)

V části Materiál a metody chybí u mnoha popisovaných metod citace.

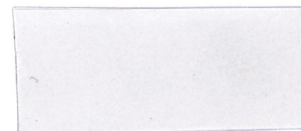
Otázky:

1. Co soudíte o výskytu tří jednonukleotidových záměn v genu *PRP22* těsně vedle sebe? Byl vznik těchto mutací prostě dílem náhody nebo máte vysvětlení pro nějaký jiný mechanismus?
2. Které pre mRNA u kvasinek podléhají alternativnímu sestřihu - jsou známy i jiné geny než meiotické?
3. Které další geny (kromě *TUB1,3*) vykazují Cdc fenotyp zapříčiněný nefunkčním sestřihem?

Závěr:

Diplomová práce Anny Valentové splňuje požadavky kladené na diplomové práce a tak doporučuji přijetí této práce k obhajobě.

V Praze, 19.9.2008



Mgr. Martin Kuthan, Ph.D.