

Posudek oponenta bakalářské práce

Jméno a příjmení uchazečky: **Libuša Koval'ová**

Název práce: **Využití protilátek k charakterizaci chromatinových modifikací u *Saccharomyces cerevisiae***

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

1. Rozsah BP a její členění	
X	A - přiměřené, odpovídají charakteru BP a významu jednotlivých částí
	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekorresponduje s jejich významem
	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
	N - nedostatečné

2. Odborná správnost	
	A - výborná, bez závažnějších připomínek
X	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
	C - uspokojivá, s čtenějšími drobnými závadami
	N - nevyhovující, s hrubými chybami

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

4. Jazyk práce	
X	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
	C - uspokojivý, čtenější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

5. Formální a grafická úroveň práce	
X	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo čtenějšími drobnými chybami
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5.:

Předložená bakalářská práce (BP) pojednává o procesu přepisu mRNA a jeho propojení se sestřihem mRNA se zaměřením na protein Prp45. Teoretická část BP obsahuje stručný a výstižný popis mechanismu přepisu a sestřihu mRNA u kvasinky *S. cerevisiae* a jejich vzájemného propojení. Popisována je též role chromatinu a jeho modifikací na zmíněné procesy. Dále je shrnuta metoda chromatinové imunoprecipitace (ChIP), která tvoří základ experimentální části BP. Experimentální část je zaměřena na roli proteinu Prp45 a jeho zkrácené varianty Prp45(1-169) na modifikace chromatinu se zaměřením na trimethylaci H3K4. Použitý materiál a metody jsou velmi podrobně popsány v samostatné kapitole a poskytují dostatek informací nutných pro provedení či zopakování daných experimentů, což velmi oceňuji.

Připomínky a otázky k BP:

Text je pečlivě zpracován, vyskytují se pouze menší překlepy (např. Tabulka č. 5 je použita pro seznam protilátek i generační dobu u růstových křivek). Metody jsou zpracovány velmi pečlivě, jedinou připomínku bych měl k popisu vyhodnocení qPCR, kde není zcela jasné, co znamená označení „cíl“ a „ref“ v uvedených vzorcích (předpokládám, že se jedná o H3K4me3 a celkový H3).

U výsledků růstových křivek (obrázek 8) není uvedena statistika (směrodatná odchylka) a není jasné, zda jsou uvedeny výsledky z 1 nebo více experimentů. Rozdíl mezi wt a mutovanými kmeny je ~20% (Tab. 5), což za určitých okolností může být dosti významné. Jaký je důvod závěru, že není rozdíl mezi růstovými vlastnostmi kmenů - nebyl tento rozdíl pozorován opakovaně? Nebyl výsledek statisticky významný? Je 20% rozdíl biologicky nevýznamný?

Popis osy y v obrázcích 9 a 10 („násobek exonu 1 u wt“) není zcela standardní a navrhoval bych spíše „Relativní exprese“ s bližší specifikací v legendě. Také panely C zobrazující výsledky 2 experimentů bych zpracoval spíše jako průměr obou měření se směrodatnou odchylkou, použité zobrazení není příliš přehledné. U některých hodnot (např. obr. 9, panel C, hodnoty C a D) je patrný velký rozdíl mezi prp45(1-169) a wt kmenem – čím si rozdíl autorka vysvětluje? Je možné, že provedení dalších experimentů by mohlo upřesnit, zda je rozdíl skutečný nebo nikoli (např. podobný rozdíl v řádu ~ 20% jako u růstových křivek)?

V diskuzi či úvodu není blíže specifikován kmen $\Delta set1$ a jeho vlastnosti (např. průběh alternativního sestřihu, růstové vlastnosti za normálních a stresových podmínek) a není tudíž zřejmé, jaké výsledky lze předpokládat na základě literatury.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

Jak byste hodnotila, na základě výsledků Vaší práce, celkovou roli H3K4me3 modifikace v alternativním sestřihu?

Jaký má autorka důvod k závěru, že není rozdíl mezi růstovými vlastnostmi studovaných kmenů (obr. 8)?

U některých naměřených hodnot metodou ChIP (např. obr. 9, panel C, hodnoty C a D) je patrný velký rozdíl mezi prp45(1-169) a wt kmenem – čím si rozdíl vysvětlujete?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **NENÍ** podmínkou přijetí práce

C. Celkový návrh

Úvod BP potvrzuje, že autorka se během studia seznámila se studovanou problematikou. Autorka prokázala zvládnutí řady metod, především chromatinové imunoprecipitace a kvantitativní PCR, jejichž provedení a správné vyhodnocení není jednoduché. Autorka též dokázala souhrnně interpretovat získané výsledky a diskutovat jejich význam v kontextu současných znalostí. BP splnila všechny formální požadavky i experimentální cíle stanovené v jejím zadání a proto doporučuji práci k přijetí.

Navrhovaná celková klasifikace: výborně

Datum vypracování posudku: 26.5.2015

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS):

MUDr. Radek Malík, Ph.D.