

OPONENT: MGR. LIBOR KRÁSNÝ, PHD

Posudek oponenta na disertační práci Mgr. Petry Beznoskové „Úloha translačního iniciačního faktoru 3 (eIF3) v terminaci translace“.

Tato disertační práce se zabývá zejména terminací eukaryotické translace na kvasinkovém a částečně také na lidském modelovém systému a je zaměřena na roli(e) translačního iniciačního faktoru (eIF3) v tomto procesu. Je psána v anglickém jazyce a sestává z původních prací, kterým předchází minimalistický úvod, materiály, a diskuse.

Těžištěm disertace je pět publikací, kde je Mgr. Beznosková první autorkou ve třech případech. Všechny publikace jsou ve vysoce kvalitních oponovaných časopisech jako např. *PLOS Genet* a *Nucleic Acids Res*. Počet prvoautorových prací a jejich kvalita jsou výrazně nadprůměrné. Autorka byla hlavní hnací silou nejen na experimentální úrovni, ale i při navrhování experimentů a celého výzkumného záměru. Toto není zdaleka vždy samozřejmé a zasluhuje vyzdvihnout. Hlavní přínos autorky byl zejména u prvoautorových prací, a na ně budou zaměřeny následující dotazy.

Práce: Translation initiation factor eIF3 and HCR1 control translation termination and stop codon read-through in yeast cells.

V této práci je ukázáno, že translační iniciační faktor eIF3 se podílí rovněž na terminaci translace. Protein HCR1, který byl původně v literatuře považován za podjednotku eIF3, a který je důležitý pro správnou terminaci translace, je v této práci navržen jako terminační spíše než iniciační faktor.

O1: HCR1 stimuluje vypuzení eRF3-GDP z ribozómu. Může se jednat o přímou interakci?

Práce: Translation initiation factor eIF3 promotes programmed stop codon readthrough.

Tato práce ukázala vliv eIF3 na pročitání stop kodónů v závislosti na nukleotidovém kontextu na 3' RNA těsně za stop kodónem. Hlavním experimentálním modelem jsou zde kvasinky, ale klíčové výsledky byly potvrzeny i na lidských buňkách.

O2: V obr. 1CD jsou použity dva různé typy vektorů, kdy v druhém případě je pro iniciaci translace použito místo IRES. Výsledky jsou kvalitativně shodné, nicméně míra pročitání se liší cca 3x. Vzhledem k tomu, že terminace by měla být v obou případech shodná, jaké je vysvětlení?

Práce: Rules of UGA-N decoding by near-cognate tRNAs and analysis of readthrough on short uORFs in yeast.

Elegantní studie, která systematicky analyzovala vliv nukleotidu následujícího za stop kodónem na pročitání stop kodónu, přičemž kombinace UGA-C měla největší vliv.

Byly rovněž určeny aminokyseliny, které jsou pro dané kombinace inkorporovány na místo stop kodónu.

O3: Vazba eIF3 na pre-terminační ribozóm je závislá na přítomnosti eRF1, a způsobuje zvýšené pročitání stop kodónu, v důsledku jeho zhoršeného dekódování pozice 3. Toto je pak závislé na identitě následující báze. Bylo by možné na základě strukturních dat provést smysluplné dynamické modelování *in silico* s cílem určit proč se tak mechanisticky děje?

O4: Jaké další směry výzkumu byste navrhla?

Závěrem konstatuji, že disertační práce působí uceleným dojmem, splňuje požadavky kladené na disertační práci v oboru, a prezentované výsledky splňují kritéria originální tvůrčí vědecké práce. Disertační práci doporučuji k obhajobě a přeji uchazečce mnoho úspěchů v další práci.

Praha 16. 8. 2016

Mgr. Libor Krásný, PhD

Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i.
Vídeňská 1083
142 20 Praha 4
Tel. 241 063 208
e-mail krasny@biomed.cas.cz

