

Posudek oponenta na diplomovou práci

<input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: RNDr. Hana Šanderová, Ph.D.
	Datum: 9. 9. 2015
Autor: Darina Šikrová	
Název práce: Functional analysis of eIF3e subunit of human translation initiation factor 3 in living cells. (Funkční analýza eIF3e podjednotky lidského translačního iniciačního faktoru eIF3 v živých buňkách).	
Cíle práce: Zjistit vliv snížení exprese (pomocí siRNA) podjednotky e lidského translačního iniciačního faktoru eIF3 v lidských buňkách HeLa na: i) množství proteinů a mRNA dalších podjednotek iniciačního faktoru eIF3 ii) integritu faktoru eIF3 iii) buněčné dělení iv) účinnost translace v) vazbu faktoru eIF3 k ribozomální podjednotce 40S	
Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO NE Rozsah práce (počet stran): 62 Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova? ANO NE Je uveden seznam zkratk? ANO NE	
Literární přehled: Odpovídá tématu? ANO NE Je napsán srozumitelně? ANO NE Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO NE Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO NE	
Materiál a metody: Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO NE Kolik metod bylo použito? cca 15 Jsou metody srozumitelně popsány? ANO NE	
Experimentální část: Je vysvětlen cíl experimentů? ANO NE Je dokumentace výsledků dostačující? ANO NE — v čem jsou nedostatky? Postačuje množství experimentů k získání odpovědi na zadané otázky? ANO NE — co chybí, v čem je nedostačující?	
Diskuze: Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO NE Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO NE Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO NE	

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ANO –~~NE~~

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

Práce je psaná v anglickém jazyce, úroveň jazyka je velmi dobrá.

Práce je uspořádaná přehledně, obsahuje všechny požadované části. Grafická úprava je velmi dobrá. Obrázky a tabulky jsou výstižné a přehledné.

Formální připomínky k diplomové práci:

- 1) U abstraktu v česko-slovenštině (str. 3) oceňuji snahu a doporučila bych českou korekturu.
- 2) Seznam chemikálií (str. 22) – pro přehlednost by bylo lepší seřadit chemikálie abecedně.
- 3) Seznam použitých pufrů: není uvedeno složení PBS, chybí pH u vzorkového pufru pro SDS.
- 4) V kapitole 8.11 (str. 32) se odkazuje na kapitolu 7 Oligonukleotidy, v práci je to ale kapitola 6. Ve stejné kapitole (str. 32, 33) by mělo být přehozeno pořadí Tabulky 4 a tabulky popisující program pro qPCR.
- 5) Kapitola 8.13 (str. 34) – u softwaru Engauge není uveden původ (firma).
- 6) Kapitola 9 (str. 38-39) – v textu není odkaz na obrázek 9.2. Obrázek 9.4 je tabulka a ne obrázek.
- 7) Obrázek 10.1 (str. 42) – popisky na ose y obsahují desetinné čárky – v anglickém textu je to matoucí.
- 8) Obrázek 11.2 B (str. 46) – nejsou popsány dráhy (levá a pravá), zda je to duplikát téhož nebo protein z různě ovlivněných buněk.
- 9) U obr. 11.4 není uveden popis osy y.

Tyto připomínky nepovažuji za zásadní pro celkové hodnocení diplomové práce.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Předkládaná práce působí celistvým dojmem.

Cíle práce jsou jasně definovány a v plném rozsahu byly splněny.

Výsledky práce objasňují vliv snížení exprese (pomocí siRNA) podjednotky eIF3e lidského translačního iniciačního faktoru eIF3 v lidských buňkách HeLa na další podjednotky tohoto faktoru, na eukaryotickou translaci a dělení buněk.

Velmi oceňuji, že dosažené výsledky jsou rovnou dávány do kontextu znalostí o komplexu lidského iniciačního faktoru eIF3. Jednotlivé výsledky jdou seřazeny tak, že na sebe logicky navazují. V diskuzi jsou výsledky diskutovány v širším kontextu a navrženy postupy pro další studium problematiky.

Práce tematicky zapadá do výzkumu laboratoře Dr. Valáška. Po doplnění dalších navrhovaných experimentů má práce velký potenciál k publikování v časopise s velmi dobrým impakt faktorem.

Diplomovou práci doporučuji k obhajobě, hodnotím ji kladně a přeji autorce mnoho úspěchů v dalším profesním životě.

Otázky a připomínky oponenta:

1) Kolik jednotek DNázy I bylo použito v reakci (v práci je uveden 1 μ l) a byla DNázová reakce inaktivována (jakým způsobem)? (kapitola 8.9, str. 31).

2) Jaká negativní kontrola byla použita při qPCR? (V práci je uvedena RNA před odstraněním DNA pomocí DNázy I – tato kontrola není vhodná)

3) Výsledky CoIP s anti-eIF3b ukazují, že vazba podjednotky j na eIF3 není deplecí podjednotky e ovlivněna. Dále Obr. 11.3 a 11.4 naznačují, že na rozdíl od ostatních podjednotek není ovlivněna vazba podjednotky j na ribozomální podjednotku 40S, což potvrzuje fakt, že podjednotka j se váže na podjednotku 40S bez přítomnosti translačních faktorů, který uvádíte. Je navrženo vazebné místo podjednotky j na eIF3 a jaká je biologická relevance (nejméně) dvou vazebných míst této podjednotky (na eIF3 a podjednotku 40S)?

4) Mohou se jednotlivé moduly eIF3 vázat na ribozomální podjednotku 40S samostatně? Jaká část eIF3 je ještě schopná iniciace translace?

5) Jaké jsou rozdíly ve fenotypech deplecí podjednotek v buňkách HeLa a HEK293? Jak je účinná inhibice exprese podjednotek eIF3 pomocí siRNA v buňkách HEK293?

6) Jakým směrem bude pokračovat výzkum této problematiky?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: