



prof. RNDr. Stanislav Zadražil, DrSc., v.r.  
Přírodovědecká fakulta UK  
Viničná 5  
128 44, Praha 2

Věc: posudek oponenta na disertační práci Mgr. Anas Khawaja

Praha, 22. 8. 2016

Dobrý den,

dovolte mi podat souhrnnou zprávu o disertační práci Mgr. Anas Khawaja.

Práce je psána v anglickém jazyce, ve zcela uspokojivé kvalitě, je klasicky členěna, a doplněna o jeden souhrnný článek, kde je Mgr. Khawaja uveden jako první autor, a dále o dva manuskripty se sdíleným, popř. samostatným prvoautorstvím Mgr. Khawaja. Dle databáze PubMed, vědecká práce se sdíleným prvoautorstvím již vyšla v BMC Microbiol., dle ústního sdělení školitele Dr. Pospíška, druhá ryze vědecká práce bude brzy odeslána k recenznímu řízení do Nucleic Acids Research.

Přesto, že by se dalo namítat, že publikační výstup z této disertační práce je spíše podprůměrný, rozsah, hloubka a kvalita této studie je dle mého soudu bezpochyby dostatečnou zárukou vědecké vyzrálosti Mgr. Khawaja. K formální stránce lze ještě dodat, že jednotlivé pasáže na sebe logicky navazují, přehled literatury je aktuální, grafická úprava je zdařilá. Stručně řečeno, bylo mi potěšením se s prací Mgr. Khawaja seznámit, vše bylo jasně vysvětleno, takže jsem ani jednou neměl potřebu hledat skryté souvislosti či rozkrývat nejasná fakta, což při složitosti dané problematiky velmi oceňuji.

Drobné poznámky:

- V abstraktu by bylo dobré rozepsat zkratky DGGE a TGGE.
- Strana 23 a 33. Dle mých informací, GTP hydrolýza na eIF5B, ke které dochází po propojení všech mezimolekulárních můstků mezi velkou a malou ribosomální podjednotkou během „subunit joining“, slouží hlavně ke snížení afinity tohoto faktoru na 80S ribozom, aby se z něj mohl uvolnit a umožnit začátek elongačního cyklu. Nevím nic o tom, že by GTP hydrolýza sloužila k odstranění eIF3 a jiných eIFs z malé ribosomální podjednotky. K tomu dochází spontánně po GTP hydrolýze na eIF2 a během GTP-nezávislého připojování 60S; tedy vyjma eIF3, které sedí na zadní straně 40S podjednotky

a má se za to, že zůstává navázáno i na už zkompletovaném 80S během začátku elongace.

- Druhý vložený manuskript není ve zkompletované formě, chybí např. afiliace spoluautorů, suplement. data, atd., což je zbytečné opomenutí.

Konkrétní otázky:

- miRNA122 vazba mezi doménu i. a ii. dle autora za určitých okolností stimuluje translaci z HCV IRES. To je překvapivé, očekával bych opak. Je znám mol. mechanismus?
- Na základě jakých kritérií byli vybráni pacienti s pořadovými čísly 4, 7, 9?
- Nejen autorem diskutované užití různých typů PCR polymeráz může mít zásadní vliv na výstup z těchto typů studií, reverzní transkriptáza nutná pro syntézu cDNAs je známa jako ještě více error-prone, což není v práci zmíněno vůbec, nakolik mohu posoudit. Nerozumím pak argumentaci autora, že i když je všeobecně známo, že Taq polymeráza je zdaleka nejvíce mutagenní, právě tato polymeráza byla použita pro studii, kde byla snaha sledovat „evoluci“ genetické diversity HCV IRES u pacientů v průběhu infekce, tedy nároky na přesnost by měly být maximální.
- Dal jsem si tu práci podobně si projít data u pacienta číslo 7. Ve Fig. 4A je uveden klon 3, který se v mobilitě nejvíce liší od wt, v obr. 4B ale chybí. Nebyla u něj nalezena žádná mutace? Jak často bylo pozorováno, že změna v mobilitě nebyla spojena s žádnou mutací, a naopak byla nalezena mutace v klonech s wt mobilitou, a jak to lze vysvětlit?
- Genetická diversity HCV IRES u pacientů v průběhu onemocnění nemusí nutně odrážet spontánní mutace, které HCV IRES v čase akumuluje. Jejich výskyt by se dal vysvětlit i tím, že daný pacient byl různými quasispecies infikován již během primární infekce. Bylo s tímto uvažováno?
- Conclusion 7 – šlo by „no direct link“ vysvětlit tím, že anti-viral terapeutika působí na takovou replikační fázi cyklu HCV, která je zcela nezávislá na fci IRES?
- Velice zajímavý je „long-range interactions“ fenomén; lze u něj nalézt nějaký patern, např. že mutace jisté oblasti vždy vyvolá kompenzační mutaci sice v jiné, ale pokaždé stejné oblasti? Nebo je to jev zcela náhodný?

Celkově konstatuji, že Mgr. Anas Khawaja má mé plné požehnání k obdržení titulu Ph.D., a rovněž mu přeji hodně štěstí na jeho další životní pouti.



Leoš Shivaya Valášek, Ph.D.  
Laboratoř regulace genové exprese  
Mikrobiologický Ústav AV ČR  
Václavská 1083  
142 20, Praha 4