

<b>Posudek na bakalářskou práci</b>	
<i>Oponentský posudek</i>	Jméno posuzovatele: <i>Dana Holá</i>
	Datum: <i>21.8.2015</i>
Autor: <i>Martin Cienciala</i>	
Název práce: <i>Syntéza bílkovin za buněčného stresu</i>	
Práce je literární rešerší ve smyslu zveřejněných požadavků (pravidel). Práce <i>neobsahuje</i> navíc i vlastní výsledky.	
<b>Cíle práce (předmět rešerše, pracovní hypotéza...)</b> <i>Shrnout nejnovější zjištění o změnách v syntéze proteinů při odezvě na osmotický a oxidativní stres u Saccharomyces cerevisiae. Poskytnout v práci zároveň i nezbytné pozadí týkající se této problematiky, obecně přijímaných teorií a znýmých faktů.</i>	
<b>Struktura (členění) práce:</b> <i>Práce má všechny požadované náležitosti: abstrakty i klíčová slova, seznam zkratk, obsah, úvod a vlastní text, který je členěn na kapitolky týkající se GCN2 dráhy inhibice translace, mRNA, tRNA a ribozómů, závěr a seznam literatury.</i>	
Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? Použil autor v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? <i>Ano. Podařilo se mi najít sice i další zdroje k dané problematice se vztahující, autor však podle mého názoru většinu podstatných literárních zdrojů použil. Některé citované práce jsou sice obecnějšího charakteru nebo se netýkají přímo osmotického či oxidativního stresu nebo S. cerevisiae, v daném kontextu však do práce vesměs patří. Seznam literatury trpí podle očekávání tím, že jej autor očividně vytvářel pomocí citačního softwaru – nic proti, ale poté je vždy nutná důkladná kontrola – takto jsou některé časopisy citovány zkráceným způsobem, i když většina je uvedena plnými názvy, v názvech článků se někdy objevují velká písmena na začátku slov, jindy ne, články pocházející z elektronických časopisů (série PLoS, BMC) nejsou většinou správně citovány (chybí číslo článku), článek Simms et al. má dvakrát název atp. Citace Chan et al. 2012 je v textu ocitována jako Chan et al. 2013 – co je správně? (a chybí u ní uvedení svazku a stránek). Článek Stadtman et Levine je v seznamu uveden správně jako přehledový, z jeho použití v textu by však vyplývalo, že v něm tiito autoři prezentují přímo svá původní data (str. 6) - je tomu skutečně tak a pokud ne, jaká je původní práce v tomto článku citovaná a vztahující se k uvedenému odstavci?</i>	
Pokud práce obsahuje (nadstandardně) i vlastní výsledky, jsou tyto výsledky adekvátním způsobem získány, zhodnoceny a diskutovány? <i>Práce neobsahuje vlastní výsledky.</i>	

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):  
*Velmi dobrá. Práce je psaná v překvapivě dobré angličtině. Autor se sice nevyvaroval některých chyb (zejména českého používání interpunkce, také „např.“ se ve vědecké angličtině označuje jako „e.g.“, ne jako „f.e.“), to však celkovou formální kvalitou textu nijak výrazně nesnižuje. Také překlepů obsahuje práce minimálně. Obrázek je zařazen pouze jeden – není jasné, zda jej autor vytvořil sám nebo jej převzal. Pokud platí druhá varianta, chybí citace. V každém případě bych uvítala více vysvětlivek (dá se odvodit, že červené a zelené kroužky značí GDP a GTP, co je ale nap. oranžový kroužek u GCN2/GCN1/20 komplexu? Jak se během kroku 6 ztrácí GDP? Je komplex nakreslený v kroku 3 skutečně „tertiary“ nebo spíše „ternary“? Možná bych také přivítala na konci práce schématický obrázek vytvořený autorem a ukazující, na jakých všech úrovních může být syntéza proteinů v důsledku obou stresů regulována (s rozlišením stresů a se znázorněnými citacemi prací, které dotyčný jev skutečně potvrdily a nejedná se tedy o pouhou spekulaci – jak totiž vyplývá z textu, dost často se o pouhé spekulace, dosud experimentálně nepotvrzené, skutečně jedná – aspoň tohoto dojmu jsem při četbě nabyla). Třeba však autor něco takového ukáže při obhajobě práce.*

### **Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

*Práce svůj cíl vesměs splnila – dokázala čtenáři dát základní představu o tom, jak složitý proces regulace syntézy proteinů v důsledku osmotického nebo oxidativního stresu u kvasinky *S. cerevisiae* je, na jakých všech úrovních se odehrává a co z toho je skutečně prokázáno a co jsou zatím spíše pouhé spekulace. Poněkud mne sice překvapilo, že z celkového počtu 66 citací (z toho 11 přehledových článků) je pouze 21 z posledních 5 let, naopak 26 je starších než z r. 2006 – dalo by se tedy možná spekulovat o vhodnosti použití slova „newest“ v cílech práce. Zejména u problematiky GCN2 dráhy v podstatě skoro žádné novější citace nejsou zahrnuty – opravdu neexistují? Rovněž název práce by měl být výstižnější (je příliš obecný a vyvolává dojem, že se člověk v práci dozví něco i o dalších organismech a o dalších typech stresu). Dost mne také zklamal závěr – čekala bych větší autorův přínos ke zhodnocení dané problematiky. Co on sám považuje za nejdůležitější proces ovlivňující syntézu proteinů za daných stresů? Jak se staví k rozdílům pozorovaným mezi osmotickým a oxidativním stresem? Jak konkrétně by navrhoval postupovat při dalším výzkumu této problematiky?*

### **Otázky a připomínky oponenta:**

*Kromě výše uvedených mám následující připomínky a otázky:*

- 1) Jakým mechanismem geny spojené s biogenezí ribozómů a translací zvýšily ochranu svých ribozómů (str. 8 dole)?*
- 2) Co se ví o vlivu HOG1 kinázy na stabilitu mRNA v souvislosti s osmotickým stresem? Narazila jsem na to v jednom přehledovém článku, ale nebyly uvedeny konkrétní mechanismy – je o tom autorovi něco známo?*
- 3) Na str. 11 a 12 autor píše, že Rowe et al. vysvětlují zvýšenou odolnost deleční mutanty PUF3 k peroxidu zvýšenou translací enzymů detoxifikujících ROS – mají to experimentálně doloženo nebo se jedná o pouhou spekulaci z jejich strany?*
- 4) Co jsou „non-coding mRNA“? (název kap. 4.4).*
- 5) Je u kvasinek v souvislosti s osmotickým/oxidativním stresem (nebo i jinými stresy) známo něco o možné roli dlouhých nekódujících RNA v posttranskripční regulaci? (u jiných organismů – savci, octomilka, huseníček – se zdá, že by tento typ RNA mohl působit u stresové odezvy i na této úrovni regulace exprese).*

- 6) Z textu na str. 13 jsem nabyla dojmu, že nukleáza RNY1 vlastně není specifická pro tRNA – je to tak? Preferuje tRNA nebo působí se srovnatelnou účinností i na rRNA a mRNA?
- 7) Práce Zhang et al. 2009 skutečně prokázala, že fragmenty tRNA mohou inhibovat translaci in vitro – ale u huseníčku. Jak je tomu u kvasinek?
- 8) Tvrzení o 70% nárůstu tRNA s modifikovaným  $m^5C$  v důsledku peroxidu vodíku se týká pouze tRNA<sup>Leu(CAA)</sup> nebo tRNA obecně? (str. 15)
- 9) Které původní práce se vlastně týká dolní odstavce na str. 15 (Chan et al. 2013/2012 nebo Dunin-Horkawicz et al. 2006)?
- 10) Je známo něco o možném ovlivnění připojování aminokyselin na tRNA v souvislosti s osmotickým/oxidativním stresem (jiného než v souvislosti s  $mcm^5s^2$  modifikací tRNA, GlyRS a MetRS, které autor zmiňuje) – mohla by i na této úrovni působit nějaká obecnější regulace syntézy proteinů?
- 11) Použití slova „proteomes“ v názvu kapitoly 6 je nevhodné – autor píše maximálně o proteinech, ne o celých proteomech.
- 12) Co znamená zkratka TAP (str. 18 dole)? – patrně translation-associated proteins, ale chybí v seznamu zkratk.
- 13) Na závěr – proč se autor soustředil právě na ony dva typy stresorů? Chápu, že v životě kvasinek jsou nepochybně důležité, nicméně – co např. teplotní stresy (případně jiné)? Je v této souvislosti o regulaci proteinové syntézy také něco známo a pokud ano, mohl by autor alespoň stručně uvést, zda se zdá, že k ní dochází na stejných úrovních (případně stejnými mechanismy) jako při stresu osmotickém/oxidativním, eventuálně v čem jsou hlavní odlišnosti? Jsem si vědoma, že toto již přesahuje rámec zadané práce, ptám se tedy opravdu jen ze zvědavosti na to, jak moc jsou v práci nastíněné mechanismy obecného charakteru a jak moc jsou specifické pro určitý typ stresoru.

Návrh hodnocení školitele nebo oponenta:

výborně   velmi dobře   dobře   nevyhověl(a)

Podpis školitele/opponenta:

Dana Holá, v Praze 21.8.2015