

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele:

Václav Vopálenský

Datum:

1. 6. 2017

Autor: Bc. Jana Fryzelková

Název práce:

Úloha helikázy RECQ5 při stabilizaci a opravě replikačních vidlic po jejich kolizi s transkripčním komplexem

Cíle práce

Hlavním cílem této diplomové práce bylo studium vlivu RECQ5 helikázy na stabilitu a integritu genomu, její roli ve stabilizaci replikačních vidlic při replikačním stresu s ohledem na probíhající transkripci, ověření zda RECQ5 helikáza ovlivňuje funkci proteinů podílejících se na opravě dvouřetězcových zlomů na DNA a vliv RECQ5 helikázy na proteiny PCNA.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran): 90

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO

Je uveden seznam zkratk? ANO, viz níže

Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO

Je napsán srozumitelně? ANO

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány?

Víceméně ANO, autorka ovšem vychází ze značného množství přehledových článků (22 přehledových článků z celkového počtu 110 článků citovaných), které nejsou v seznamu literatury nijak speciálně vyznačeny. Citace Garcia *et al.* 2004 (str. 31) je celá v kurzivě.

Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito? cca 9

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO, ale u popisů některých metod by občas neškodil detailnější popis. Týká se to zejména u *western blotu* – jaké mléko jste použili k blokaci membrán, jaký přístroj byl použit na vyvolání filmu, jak koncentrovaný byl roztok Ponceau S?

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostatečná? víceméně ANO

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky?
spíše ne NE, viz níže

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO, s výhradou; viz níže

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? NE

Díky tomu, že autorka strávila s přípravou této diplomové práce delší dobu, dostala se do lehce netradiční situace, kdy může vlastní ne zcela vypovídající a úplné výsledky diskutovat s již publikovaným článkem obsahujícím jak autorčiny výsledky, tak i výsledky ostatních členů laboratoře. Což je jistě výhodou, nicméně i v tomto případě by mohla autorka konfrontovat svoje zjištění i s jinými zdroji, což se sice děje, ale v ne příliš velké míře.

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ANO

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

Formální úroveň práce není zcela bezchybná. Překlepů se zde vyskytuje pomálu (str. 23 – prostrové; str. 51 – imublot; str. 81 - protazím), naopak výrazy slangové (zreplikováno, vývin, napipetováno, montovací činidlo), ne zcela biologicky přesné (protein RNA polymerázy II, putuje při 250 kDa)) a anglikanismy (slovo *fokus* v různých obměnách, hydroxyurea) autorka využívá často a s chutí. Některá vyjádření jsou nepřesná či nejasná (... progres replikačních vidlic, jež procesují ... (str. 23)), jiná zavádějící a nepřesná (rychlost procesování).

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Přes všechny výše i níže uvedené poznámky, připomínky a dotazy doporučuji tuto diplomovou práci k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:

Nejprve bych si dovilil pár spíše formálních připomínek:

1/ Termín prokaryotický se nyní příliš nepoužívá, bývá specifikováno, zda se jedná o bakterie či *archea*.

2/ Na každý z obrázků musí být odkaz v textu práce (což neplatí v tomto případě pro obrázky 2,2; 2.6; 2.8). Obrázek by se měl také vyskytovat co nejbližší míst, kde je popisován (obr. 2.3). V textu je na straně 15 odkaz na neexistující obrázek 1, pravděpodobně má být uvedeno obr. 2.1.

3/ Autorka v seznamu zkratk neuvádí české ekvivalenty některých výrazů, ač k tomu není zřejmý důvod (SSB - *single-strand binding protein*). Český ekvivalent anglického výrazu *hydroxyurea* je hydroxymočovina.

4/ Značka „prime“ ('), označující např. orientaci vláken nukleových kyselin je uváděna nesprávně v několika různých variantách v průběhu celé práce.

A nyní několik konkrétních otázek:

- 1/ Existují i u bakterií místa problematická pro replikaci (str. 18)?
- 2/ Jaké procento genů je u *E. coli* ko-orientováno ve směru replikace (str. 20)?
- 3/ Jakou DNA polymerázu inhibuje aphidicolin (str. 24)?
- 4/ Je známa funkce dvou kratších isoform REQ5 helicázy (str. 31)?
- 5/ Byla již připravena myš s deletovanou REQ5 β helicázou? Případně buněčná linie s delecí téhož?
- 6/ Fungují esiREQC5 a siRECQ5 siRNA i proti krátkým isoformám? Analyzovali jste možný *off-target* nebo *miRNA-like* efekt používaných siRNA?
- 7/ Proč byl BRCA1 přenášen na membránu pomocí polosuché varianty *western blotu*?
- 8/ Počítali jste počet shluků proteinů 53B1 a BRCA1 i v jiných buněčných liniích?
- 9/ Pokud jsou data presentovaná v grafech 5.8A a 5.8B odvozena z obrázku 5.7, dovolil bych si pochybovat o jejich vypovídací hodnotě. Pokud tedy nemáte k dispozici i jiné expozice téhož imunoblotu, případně imunoblotty jiné.
- 10/ Je známo jak vypadá interakce RNA polymerázy II a RECQ5 helicázy? Je tato interakce stabilní po celou dobu transkripce?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: