

Posudek na bakalářskou práci	
<input type="checkbox"/> školitelský posudek <input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: Radovan Fišer Datum: 30.5.2017
Autor: Aneta Valtová	
Název práce: Metabolická kontrola buněčného cyklu u bakterií	
<input checked="" type="checkbox"/> Práce je literární rešerší ve smyslu zveřejněných požadavků (pravidel). <input type="checkbox"/> Práce obsahuje navíc i vlastní výsledky.	
Cíle práce (předmět rešerše, pracovní hypotéza...)	
<p>Autorka se pokusila vytvořit přehled o známých mechanismech, kterými metabolický stav bakteriální buňky ovlivňuje buněčné dělení. Práce se věnuje hlavně molekulám (p)ppGpp a ve velké míře popisuje proteiny, které nějakým způsobem interagují s proteinem FtsZ. Zadané téma je poměrně široké a komplikované.</p>	
Struktura (členění) práce: Práce má klasické členění. Samotná textová část se dělí na hlavní kapitoly: Dělení buněk, Regulační mechanismy nutričního stresu ovlivňující buněčné dělení, Přímé metabolické senzory uplatňující se v regulaci buněčného cyklu, <i>Caulobacter crescentus</i> – významný model pro studium buněčného cyklu, Závěr.	
Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů?	
Literární zdroje jsou dostatečné. Formát citací je nejednotný. V samotném textu jde o použití znaku &, spojek „and“ a „et al.“ Někdy jsou uváděny iniciály, jindy nikoli. Čitelnost textu to však příliš nezhoršuje. V seznamu citací by bylo dobré uvádět odkaz na DOI u každé (nebo žádné) reference.	
Pokud práce obsahuje (nadstandardně) i vlastní výsledky, jsou tyto výsledky adekvátním způsobem získány, zhodnoceny a diskutovány?	
Práce neobsahuje vlastní výsledky.	
Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň): Délka textu je 21 stran. Práce obsahuje 9 barevných schémat. Obr. 3 je zcela chybný a Obr. 9 je kvůli barevnému značení velmi těžko srozumitelný. Obrázky jsou přejímány bez úprav (jsou popsány anglicky) a někdy jsou špatně oříznuté. Na Obr. 1 a Obr. 3 není v textu odkazováno. Text obsahuje poměrně málo překlepů a pravopisných chyb. Velké potíže jsou však s větinou skladbou. Např: <i>„Toto propojení je zajišťováno enzymy, participujících na stěžejních metabolických drahách, převážně na glykolýze a to buď enzymy figurující přímo v glykolýze nebo enzymy figurující v drahách spojených s glykolýzou.“ (str. 1)</i>	

„Předpokládá se, že Lon **protéza** zaujímá svou funkci i v nutričním stresu, ta však zůstává stále **předmět** studia.“ (str. 19)

„Tato práce zahrnuje mechanismy velmi dobře **pospané** na molekulární úrovni, ale i mechanismy objasněné dosud málo, **které jsou však nutné zmínit** vzhledem k tématu práce.“ (str. 21)

Podobných problémů je v textu mnoho (viz příloha) a značně zhoršují srozumitelnost.

Na jedné stránce se vyskytují obě formy slov chromosomy / chromozomy, organismy / organizmy.

Práce obsahuje velké množství „pododstavců“ (ukonční řádku bez odsazení řádku následujícího). Tyto fragmenty na sebe někdy navazují, jindy nikoli. Velmi to znepráhledňuje čitelnost textu. Např: „*Spojitosť s buněčným dělením vyšla najevo, když se ukázalo, že při jeho absenci dochází k nesprávné segregaci chromozomů.*“ Tato věta se asi odkazuje k proteinu MreB, který je zmíněn o 6 řádků výše (str. 3).

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Text práce je bohužel napsán místy velmi nesrozumitelně. Může to znamenat i skutečnost, že se autorka nedokázala v tématu dostatečně zorientovat.

Autorka by si měla opravdu ujasnit, co je to genom, gen a protein, co znamená genová exprese a jak probíhá enzymatická reakce.

V textu se objevují např. následující tvrzení:

Proteinu Crp byla nově přisouzená i role v kódování genů pro ABC transportery (str. 10)

Po analýze vazebných míst v genomu pro Cra protein bylo objeveno, že se jich u E.coli nachází celkem 164. (str. 10)

Biochemická dráha, která předchází tvorbě UgtP je biosyntéza glukolipidů. (str. 13)

Proteiny KidO a GdhZ jsou produktem cyklu dusíku. (str. 21)

Ze str. 13 a 17 se zdá, že pyruvát je protein s proměnlivou lokalizací a mírou exprese.

Nejsem si jistý, kolik z těchto nepřesností je vyvoláno spěchem, ve kterém byla možná práce sepisována, a kolik opravdovým nepochopením tématu.

Otázky a připomínky oponenta:

K textu mám celou řadu připomínek (přiloženo níže).

Otázky:

- 1) Jaké jsou sekvence DNA, na které se vážou proteiny CceR, Crp a Cra?
- 2) Protein CtrA se váže do Cori (origin u *Caulobacter*) a tím ukončí replikaci? (str. 18)

Návrh hodnocení školitele nebo oponenta (bude zveřejněn)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis školitele/opponenta:

Technické připomínky (nebudou podrobně řešeny při obhajobě):

V obrázku č. 3 je omylem ponechán symbol „E“ z původní publikace.

Následující souvětí mi nedává smysl a nechápu, co se kam (a proč) váže:

„... Inspirací touto vazbou vyžadující kofaktor vyšlo najevo, že nukleotidy (p)ppGpp se na DnaG primázu vážou do pozice +1 nukleobáze od vazebného místa pro topoizomerázu II a touto vazbou zablokují vstup dalších nukleotidů, které jsou stavebním materiálem pro primer, jehož stavba se tak zablokuje. „

Na str. 8 se dále dozvídáme, že primáza DnaG má 5' konec. Zde se také tvrdí, že pouze na tomto konci může „GTP iniciovat transkripci“. Co znamenají tato tvrzení? Možná by se tyto nesrovnalosti daly vylepšit pomocí obrázku č. 3 „*Model vazby pppGpp a ppGppna DnaG primázu*“ (na který není z textu odkazováno). Podle chybné legendy jsou zde však vyobrazeny molekuly pppGpp a ppGpp jako lesklé fialové koule. Protein DnaG zde zobrazen není. Autorka zde neměla dostatečnou snahu vysvětlit, jak vazba GTP a (p)ppGpp na protein DnaG probíhá.

Co znamená „environmentální prostředí“ ? (str. 1)

Str. 4: Neobratné formulace:

První takové objevené faktory byly proteiny Noc, nalezen v *Bacillus subtilis* (Wu and Errington 2004) a protein SImA, nalezen v *Escherichia coli* (Bernhardt and de Boer 2005).

Str. 5: „... DnaA dostatečně nekoreluje s nutričním stavem buňky ...“ Korelovat mohou určité veličiny, nikoli protein a stav buňky. Autorka patrně minila aktivitu nebo množství proteinu DnaA. V další větě se naopak dozvídáme, že taková vazba patrně existuje.

Str. 7: Nesrozumitelné (patrně měl být použit podmiňovací způsob):

„... ani mnoho dalších studií neprokázalo, že je jeho (*B. subtilis*) dělení též regulováno ve fázi iniciace replikace“

Str. 7: co znamená toto tvrzení? „... nižší hladina (p)ppGpp jen zpomaluje frekvenci replikace „

„Genetická informace je u bakterií uložena v podobě svinutého nukleoidu, který není nijak oddělen od cytoplazmy a vytváří cirkulární molekulu.“ Význam věty je takový, že nukleoid vytváří molekulu.

Str. 9:

překlep: dlouho známe sigma faktory

„Bude-li se jednat o aktivaci či inhibici záleží na kinetických a termodynamických parametrech jednotlivých promotorů (Gopalkrishnan et al. 2014)“. Co je to za parametry?

... buňka nachází v dostatečném nutričním prostředí, váže se na RNA polymerázu σ_{70} , která spustí expresi tzv. „house-keeping“ genů ...

Nepřímý vliv je také vysvětlován rostoucími volnými vazebnými místy na RNAP ...

str. 10:

Oba tyto proteiny (Cra, Crp) byly známy pro svou regulaci enzymů hlavního metabolismu uhlíku, dnešní studie však ukázaly, že kódují drah mnohem více.

Byly mezi nimi nalezeny vazebná místa ...

Str. 11:

Objevení nové funkce známých enzymů, která spočívá v přenesení signálu přímou cestou z metabolických drah a ovlivnění tak rozdělení buňky, způsobilo v dané problematice jakousi revoluci a přineslo nové možnosti pro studium. ← není rozumět

Tradiční metody studia metabolismu jsou nespolehlivé

objevení několika enzymů ovlivňujících buněčné dělení přímou cestou.

Str. 13: Podobně jako pyruvát (viz kapitola 4.1.2.) je UgtP v nutričně bohatých podmínkách exprimován více a je lokalizován v blízkosti dělicího septa, aby tak mohl interagovat s proteinem FtsZ.

Str. 17: Podobně jako lokalizace pyruvátu v dělicích se buňkách, existují i u jiných bakterií proteiny pohybující se podle polohy nukleoidu, je jím například protein OatA u *Lactobacillus planatarum*.

„Také bylo ukázáno, že rostoucí koncentrace OpgH vnutričně bohatém prostředí snižuje počet dostupných podjednotek FtsZ, jelikož jejich normálně konstantní koncentrace v přítomnosti OpgH klesá (Chien, Levin et al. 2012).“ To jsou biochem. data, nebo mutageneze? Jak se zvyšovala hladina OpgH?

Str. 17: „ ... který je vyčerpána při nedostatku glukózy. „

redundance: O-acetyltransferáza (OatA) má již známou enzymatickou aktivitu, je jí O-acetylace peptidoglykanu.

Protein CtrA je multiregulační transkripční faktor kódující nejméně 14 genů pro proteiny zastávající nejrůznější funkce ...

Nukleotidy (p)ppGpp jsou zde syntetizovány pouze proteinem SpoT při **SOUČASNĚM** nedostatku glukózy i aminokyselin (Boutte and Crosson, 2011).

Str. 21: Dá se očekávat, že díky moderním metodám **a rostoucímu zájmu ujasnit všechny mechanismy** související s metabolickou kontrolou, budou výše zmíněné mechanismy popsány na nižší, více molekulární úrovni.

Obr. 9: Barevné značení je zde zcela nepochopitelné. Část obrázku je na první pohled červená a jiná část je modrá. Toto barevné značení však nesouvisí s vyznačením metabolických drah, které probíhají v *E. coli* a *B. subtilis*. Obrázek by měl být upraven (přebarven, oříznut nadpis).

Překlep: *R. sphaeroides* (*Rhodobacter sphaeroides*)