Posudek na bakalářskou práci

☐ školitelský posudek ☒ oponentský posudek	Jméno posuzovatele: Mgr. Kristina Roučová Datum: 5.9.2018

Autor: Tomáš Kučera

Název práce:
Regulační síť řízená sigma faktory RNA polymerázy v *Corynebacterium glutamicum*

☒ Práce je literární rešerší ve smyslu zveřejněných požadavků (pravidel).
☐ Práce obsahuje navíc i vlastní výsledky.

Cíle práce (předmět rešerše, pracovní hypotéza…)
Cílem práce je charakterizace faktorů sigma a popsání jejich role v rámci regulační sítě v buňkách *Corynebacterium glutamicum*, dále vliv faktorů sigma na transkripční regulátory, kde je zvláštní pozornost věnována regulátorům řízeným faktorem σ^H při odpovědi na tepelný a oxidativní stres.

Struktura (členění) práce:
Úvod
Kapitoly literární rešerše
Závěr
Seznam použité literatury

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány?
Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů?
Autor v práci cituje 97 literárních zdrojů, což je dostatečné množství k sepsání práce. Zdroje však nejsou vždy správně citovány, například autor změnil tvrzení původního zdroje či připsal tezi práci, která se o dané věci nezmiňuje.

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):
Obrazová dokumentace je dobrá a vhodně doplňuje text. Zvláště oceňuji vlastní obrázky a obrázky schémat převzaté a doplněné o další informace. Autorovi však vytýkám uvádění důležitých informací pouze v popisech obrázků, které by měly být zmíněny v textu, a nevysvětlení některých zkratek a informací na přejímaných obrázcích.
V některých kapitolách zanedbal autor členění souvislého bloku textu na odstavce, což snižuje čitelnost a ztěžuje orientaci v předkládaných informacích.
Jazyková úroveň je dobrá, s malým počtem překlepů, které pravděpodobně pramení z reformulací již napsaných vět.
Za nevhodný považuji citační formát, který autor zvolil. V případě zkrácení výčtu autorů zkratkou "*et al.*" není užita kurzíva. Formát seznamu literatury je nejednotný, u prací od mnoha autorů jsou jména 7. a dalšího autora nahrazena třemi tečkami a nerozeznané speciální znaky (ü, á, è) jsou nahrazeny otazníky.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:
Autor v práci poskytl krátké obecné shrnutí iniciace translace u bakterií a následně se zabýval jednotlivými faktory σ u *C. glutamicum*, jejich regulací a nastíněním

dalších úrovní regulace transkripce za pomoci transkripčních regulátorů, včetně delší kapitoly pojednávající o změně regulace transkripce za tepelného a oxidativního stresu. Dle mého názoru autor splnil cíle práce a práci doporučuji k obhájení.

Otázky a připomínky oponenta:

Připomínky

Obr. 1 - Struktura RNA polymerázy (str. 2) obsahuje špatně rozlišitelné podjednotky (bílé $\alpha_1\alpha_2\omega$, zelené části pro β i β'). V původním článku má ukazovat evolučně konzervované části RNAP a příslušné podjednotky jsou odlišeny na jiném obrázku, proto by se do práce hodil jiný obrázek nebo přidání popisků. U tohoto obrázku se také v popisku rozepisujete o katalytickém centru polymerázy, což patří do textu.

Chápu potřebu vyhnout se v textu anglicismům, ale nahrazení výrazu "konsensus sekvence" za "konvenční sekvence" se mi nezdá adekvátně zastupující.

V práci několikrát zmiňujete, že operonu předchází promotor. Promotor je součástí operonu.

Na str. 3 jste opomenul, že faktory sigma se mohou na RNAP vázat i samy o sobě, bez pomoci aktivátorů.

RNAP je komplex složený z více proteinů, podjednotek, které mají své C a N-konce. Motivy na DNA jsou rozeznávány C-koncovou doménou podjednotky.

Na str. 7 je v citaci uvedena i zkratka jména autora (M. Lonetto *et al.* 1992).

Na str. 7 je chybně uvedeno rozpoznávané místo domény σ_1 (rozšířený −10 motiv namísto diskriminátoru).

Na obrázku 4, 5 a 6 se objevují zkratky (X-link, HTH a RpoN Box; MSG a PHB; RpoD), které nejsou vysvětleny ani v textu, ani v popisu obrázku.

Na str. 9 píšete, že cílem fyzické regulace nemůže být interakce RNAP s faktorem σ, a následně se zabýváte faktory anti-σ, které fyzicky brání interakci RNAP s faktorem σ.

Na str. 11 citujete nesprávný letopočet z přehledového článku Lee *et al.* 2016 (1957 místo 1956).

Pořadí obrázků 6 a 7 i obrázků 8 a 9 bych prohodila, aby odpovídalo zmínění obrázků v textu.

Užíváte špatný symbol apostrofu při označování konců DNA.

Na str. 16 chybně uvádíte, že byla při inaktivaci faktoru σ^D zjištěna zvýšená koncentrace sloučenin obsahujících sacharidy v extracelulárním prostoru. Citované práce uvádějí, že k jevu dochází naopak během nadprodukce faktoru σ^D.

Správný název je F_oF_1 ATPáza, neboť se na tuto podjednotku váže oligomycin.

Pozor na rozdíl mezi slovy intermolekulární a intramolekulární (str. 20).

Na str. 20 zaměňujete velikost genu (bp) a velikost proteinu (kDa), také jste zde zaměnil RshA za RsdA.

V textu chybí odkaz na obrázek 8.

Vyvarujte se definitivních vyjádření a nepřesností ve formulacích.

Na str. 26 jsou opět nevysvětlené zkratky, které chybí i v seznamu zkratek.

Otázky

V práci opakovaně zmiňujete rozdělení transkripčních regulátorů na lokální, hlavní a globální, aniž byste jej vysvětlil. Podle čeho se regulátory dělí? Do kterých skupin byste zařadil regulátory spřažené se σ^H, kterými se v práci zabýváte?

Na str. 5 uvádíte, že "doména proteinu CarD vytváří stabilizační vazby komplementární k vazbám RbpA". Co myslíte výrazem „komplementární“ a jak se jednotlivé proteiny na RNAP váží?

Na str. 5 tvrdíte, že proteiny RbpA a CarD během stabilizace otevřeného komplexu pravděpodobně spolupracují. Opíráte se o publikace Bae *et al.* 2015 a Srivastava *et*

al. 2013, ani jedna práce však o spolupráci těchto proteinů, ani proteinu RbpA nehovoří. Odkud toto tvrzení máte?

Na str. 5 uvádíte tzv. *appropriators,* které "se zaměňují za části RNAP, čímž změní afinitu ...". Za jaké části RNAP se zaměňují? Mohl byste uvést příklady?

Na str. 7 se zabýváte doménovým složením faktorů σ^{70}. Uvádíte, že skupina 1 se liší od skupiny 2 pouze 70-90 AMK na N-konci, který má jak stabilizační vliv na komplex holoenzymu RNAP s promotorem a zároveň maskuje DNA vazebnou doménu faktoru sigma. Zároveň na upraveném obrázku 3 vyobrazujete doménové složení faktoru σ skupiny 2 včetně domény 1 (oblast 1.1 a 1.2). Obrázek uvádíte jako převzatý z publikace Paget *et al.* 2015, v níž se uvádí, že faktory skupiny 2 oblast 1.1 neobsahují a oblast 1.2 je součástí domény 2. Také maskování DNA vazebné části má dle této publikace pouze oblast 1.1, a tím i pouze skupina 1. Obrázek také vypadá, že jste se při jeho tvorbě inspiroval i jinou publikací, než uvádíte. Mohl byste se ke vzniku tohoto obrázku vyjádřit?

Jakým posttranslačním mechanismem a jak je modifikován N-konec faktorů σ s extracytoplazmatickou funkcí, který zmiňujete na str. 9?

Na str. 11 uvádíte, že "po přijetí signálu se regulace FAS může změnit na pozitivní a stimulovat aktivitu daného FS". Mohl byste uvést příklad takového faktoru anti-σ, který změní svou funkci z inhibiční na stimulační?

Na str. 21 uvádíte, že "... v kmeni s delecí sigM, došlo ke snížení exprese genu sigM...". Jaké snížení exprese byste čekal při deleci genu? Na kolik byla ve kmeni exprese snížená oproti wt?

Návrh hodnocení školitele nebo oponenta

☐ výborně ☐ velmi dobře ☐ dobře ☐ nevyhověl(a)

Podpis školitele/oponenta: