

Posudek oponenta bakalářské práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky : **LUCIE PECLINOVSKÁ**

Název práce: **STUDIUM A PODJEDNOTKY LIDSKÉHO TRANSLAČNÍHO INICIAČNÍHO FAKTORU 3 (eIF3) METODOU RNA INTERFERENCE**

A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce (označte právě jednu z možností)

1. Rozsah BP a její členění	
	A - přiměřené, odpovídají charakteru BP a významu jednotlivých částí
X	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
	N - nedostatečné

2. Odborná správnost	
	A - výborná, bez závažnějších připomínek
X	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
	C - uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami
	N - nevyhovující, s hrubými chybami

3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů	
X	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
	B - uspokojivé, s občasnými neobratnostmi zejm. v umístění odkazů, nebo s celkově nižším počtem citací
	C - s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, přednášky, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat
	N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)

4. Jazyk práce	
	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
X	C - uspokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

5. Formální a grafická úroveň práce	
	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
X	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo četnějšími drobnými chybami
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

Autorka se seznámila se základními biologickými a molekulárně biologickými technikami, které se při studiu iniciačních faktorů translace používají. Po formální stránce je práce členěna obvyklým způsobem, vyhovujícím pracím obdobného charakteru.

ad 1. V poměrně rozsáhlém úvodu se autorka věnuje problematice regulace iniciace translace. Nicméně postrádám úvod do použité metody tj. do techniky RNA interference. Dále v kapitole „Výsledky“ autorka uvádí některé informace, které by měly být uvedeny spíše v kapitole „Metody“ a jiné, které naopak zařazujeme do kapitoly „Diskuse“. V „Závěru“ by měly být stručně uvedeny pouze vaše výsledky. Nicméně v prvním odstavci shrnujete dosavadní poznání, na které vaše práce navazuje a ještě k tomu bez potřebných citací.

ad 2 a 4. Další připomínku mám k některým neobratným formulacím („mnoho funkčních studií eIF3 pochází z kvasinek“ na str. 15, první odstavec kapitola 6.1. atd.) a k používání neodborných výrazů („slili jsme supernatant“ na str. 28 atd.). Autorka sice měla snahu některé neodborné termíny alespoň označit uvozovkami („...„proběhnout“ elektroforézu na str. 29), nicméně použitý styl jazyka velmi snižuje celkovou úroveň práce. Práce navíc obsahuje celou řadu překlepů a nepřesností (např. str. 14 „...medované eIF5B.“ nebo kapitola 5.4.1., druhý odstavec, str. 25 „Buněčná linie HeLa jako první umožnila experimenty *in vitro*“).

ad 5. Velmi nešťastné je také autorčino nakládání se zkratkami. V práci se vyskytuje řada zkratk, které v seznamu zkratek uvedeny nejsou (např. GCN4 na str. 18). Navíc autorka na některých místech nerespektuje vysvětlení zkratky v případě prvního použití v textu (např. MTT v anglickém abstraktu na str. 5).

Na druhou stranu je třeba vyzdvihnout, že práce poskytuje zajímavé předběžné výsledky a využívá velmi moderní techniky RNA interference. Řadu výše zmíněných připomínek lze jistě přičíst nezkušenosti autorky. Práci celkově hodnotím kladně a doporučuji ji k obhajobě.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

1. Ve výsledcích na str. 37, druhý řádek, píšete, že vzájemná vazba krátkých interferujících úseků RNA s komplementární mRNA způsobí rozštěpení dvouvláknové RNA a tím je zamezeno jejímu přepisu. Můžete blíže vysvětlit, jak tedy tato vzájemná vazba způsobí popisované štěpení?
2. V kapitole 5.2. vyjmenováváte mimo jiné také „chemikálii“ INTERFERin od firmy Polyplus transfection. V dalším textu již tuto látku zapisujete malými písmeny, tj. interferin. Jedná se o tutéž látku? O jakou sloučeninu jde a jak ovlivňuje experiment RNA interference?
3. V experimentech popisujících životaschopnost buněk v důsledku deplece eIF3a jste stanovila směrodatnou odchylku. Proč není uvedena také směrodatná odchylka popisující variabilitu experimentů studujících míru exprese eIF3a (tj. „deplece“ eIF3a) po RNA interferenci?
4. Na str. 18 zmiňujete eIF2alpha respektive význam jeho fosforylace na regulaci iniciace translace. Dále naznačujete, že také v případě eIF3a bude pravděpodobně fosforylace významný regulační prvek. Proto moje otázka směřuje k fosforylaci eIF2alpha. Jak tento krok (fosforylace eIF2alpha) reguluje translaci a které enzymy jsou za tuto fosforylaci odpovědné?
5. Na str. 18 používáte zkratku GCN4 (bez vysvětlení této zkratky), pouze s informací, že se jedná o kvasinkový gen důležitý pro proces reiniciace. Dále zmiňujete, že tento gen je důležitý regulační prvek v případě translace při nedostatečné suplementaci aminokyselin. Nicméně v literatuře [např. Chen, J.-J., Throop, M. S., Gehrke, L., Kuo, I., Pal, J. K., Brodsky, M., and London, I. M. (1991), *Proc. Natl. Acad. Sci. .S.A.* 88, 7729-7733] se objevuje také protein GCN2 (z angl. „general control nonderepressible 2 protein“), který je schopen regulovat iniciaci translace v případě nedostatku aminokyselin. Jaký je vztah mezi vámi zmiňovaným GCN4 a GCN2?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **JE** / **NENÍ** (zakroužkujte) podmínkou přijetí práce

C. Celkový návrh

Práci doporučuji k přijetí k dalšímu řízení: **ANO** / **NE**

Navrhovaná celková klasifikace: **DOBŘE** až **VELMI DOBŘE**

Datum vypracování posudku: 1. 6. 2012

Jméno a příjmení, podpis oponenta : RNDr. Markéta Martínková, PhD.