

## Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele:  
Mgr. Marian Novotný, PhD.

Datum: 31.5.2012

Autor:  
Petra Beznosková

Název práce:  
Dissection of eIF3 functional domains promoting the 48S pre-initiation complex assembly

### Cíle práce

Cílem práce bylo charakterizovat vliv celkem třech mutací ve dvou proteinech iniciačního faktoru eIF3 na vazbu mRNA do preiniciačního komplexu.

**Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému?** ANO ~~NE~~

Rozsah práce (počet stran):

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO ~~NE~~

Je uveden seznam zkratek? ANO ~~NE~~

### Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO ~~NE~~

Je napsán srozumitelně? ANO ~~NE~~

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

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

### Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO ~~NE~~

Kolik metod bylo použito? Více než 20

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO ~~NE~~

### Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO ~~NE~~

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO ~~NE~~ - v čem jsou nedostatky?

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky?  
ANO ~~NE~~ – co chybí, v čem je nedostačující?

### Diskuze:

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

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO NE  
Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO NE

**Závěry (Souhrn) :**

Jsou výstižné? ANO NE

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

Formální úroveň práce je velmi vysoká. Práce je velmi pečlivě zpracována, takže jsem v ní nenašel překlepy. Práce je psaná anglicky. Úroveň angličtiny se ostýchám hodnotit, přesto si troufnu zmínit, že věty byly na můj vkus docela dlouhé a s větnou vazbou, která mi v porozumění textu nepomáhala. Asi by pomohlo přidat čárky do vět. Jinak bych také asi volil členy před podstatnými jmény, ale i zde se mohu mýlit. Přesto šlo o angličtinu velmi dobrou a bohatou (i několik nových slovíček jsem se musel naučit). K obrazové dokumentaci nemám výhrad, snad bych jen na úplný úvod přidal obrázek, který shrnuje iniciaci translace, neboť jde o docela komplikovaný proces. K tabulkám nemám výhrad.

**Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

**Autorka si na začátku kladla za cíl zjistit, které části eIF3 komplexu ovlivňují vazbu mRNA do 43S komplexu. Na základě literárních údajů vytypovala tři mutace ve dvou proteinech kvasinkového eIF3 komplexu a následně studovala jejich vliv vazbu mRNA. Za tímto účelem připravila celou baterii rekombinantních vektorů a kvasinkových kmenů. Při práci využila účtyhodnou sbírku metod – klíčovou metodu se jela dokonce učit na John Hopkins School v Baltimoru. Autorka pak ve výsledcích a diskuzi představuje získané výsledky, hodnotí je a na závěr naznačuje i další možný postup. Celkově tedy jde o práci velmi zdařilou, autorka prokázala schopnost samostatné vědecké práce a schopnost svou práci srozumitelně popsat a interpretovat v angličtině a je tedy mou milou povinností ji doporučit k obhajobě a hodnotit známkou výborně.**

**Otázky a připomínky oponenta:**

Dovolte mi však i několik připomínek především k formální úrovni práce. Reference nemají jednotný formát – především názvy časopisů se vyskytují v několika formátech – nejčastějším formátem jsou plné názvy časopisů, ale vyskytují se i zkratky názvů časopisů a to jak jednopísmenné, tak i vícepísmenné. Několik zkratk se v textu vyskytuje předtím než jsou řádně zavedeny (obvykle o pár stran dále), což zneprůjemňuje čtení.. Osobně bych uvítal kdyby se kapitola 3 z literární rešerše přestěhovala na začátek výsledků nebo tam byla alespoň znovu podrobněji zopakována – pomohlo by mi to v pochopení experimentů.

V práci zmiňujete homologii kvasinkového a savčího eIF3. Je nějaká podobnost i mezi bakteriálním IF3 a kvasinkovým eIF3? Struktura bakteriálního IF3 byla určena již několikrát a to dokonce i v komplexu s 30S jednotkou ribozómu. Může nám něco říci struktura

bakteriálního IF3 o Vámi kladených otázkách?

Doba zdvojení kvasinek je u kmene PBH55, který nese mutaci prt1-1 (S518F) výrazně delší než u zbylých dvou studovaných mutací. Jde tedy u mutace prt 1-1 o nejméně zásadní zásah do efektivity translace ze zmiňovaných mutantů?

Máte nějakou představu o sekundární struktuře okolo serinu 518 Prt1?  
Existují nějaké indicie, že by mohl být Ser 518 fosforylován?

Mutace rnp1 a prt1-1 na proteinu PRT1 leží relativně daleko od sebe a v odlišných doménách. Obě mutace měly efekt na vazbu mRNA. Interpretuje výsledky tak, že obě postižené oblasti mají přímý vliv na vazbu mRNA?

V závěru diskuze zmiňujete, že budete testovat další mutanty eIF3. Povedlo se Vám již s nimi získat nějaké zajímavé výsledky?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta: