

## Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele:  
Doc. RNDr. Blanka Janderová CSc.

Datum:  
7.9.2015

Autor:  
Bc. Adam Hlaváček

Název práce:  
Role of translational elongation factors in dynamic of stress granules

### Cíle práce

Autor si kladl za cíl přispět ke studiu role transkripčního elongačního faktoru eIF5A v tvorbě a dynamice stresových granul (SG) u *Saccharomyces cerevisiae* po intenzivním teplotním šoku. Podařilo se mu prokázat, že tento faktor tvorbu SG ovlivňuje a že mutace eIF5A-3 má na tvorbu SG negativní vliv, ale neovlivňuje negativně jejich rozklad v permissivní teplotě. Naproti tomu tato mutace má pozitivní vliv na přežití buněk po teplotním šoku, což může souviset rovněž s kvalitou a kvantitou SG. V závěru práce uvádí autor předběžná data ze studia vlivu této mutace na aktinový cytoskelet.

### Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

*Rozsah práce (počet stran):* 93 stran, nejobsáhlejší je kapitola Results – 36 stran.

*Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova:* ANO

*Je uveden seznam zkratek?* ANO

Několik zkratek ovšem chybí, čtenář si ovšem bez problémů domyslí, co zkratka znamená (str. 20- RPN, str. 32–NTC, str. 33 - CM , str. 49-Fig.11 – CTRL, str. 71-Fig. 27 -C).

### Literární přehled:

*Odpovídá tématu?* ANO

*Je napsán srozumitelně?* ANO

V některých úsecích se zdá, že se autor pohybuje v příliš obecné rovině, bez konkrétních citací. Předpokládám ale, že je to dáno náročností tématu (translace a její regulace), kde autor potřeboval čtenáři vysvětlit základní fakta a nemohl zacházet do přílišných podrobností.

Trochu mi vadilo, že vysvětlení toho, co je hypusine se objevilo až na str. 27 i když byl tento nepřilíš obecně známý proces zmiňován už na předchozích stranách 21 a 26.

*Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů?* ANO, autor uvádí 77 literárních pramenů, které jsou převážně recentní. Přesto se občas vyskytují delší úseky bez citací – např. str.17-18 v důležité kapitole pojednávající o regulaci translace. Nepochopila jsem proč je kapitola Translation controls in *S.cerevisiae* – regulatory mechanisms - nazvána takto. Vyskytují se v ní jen 3 citace, které se ale netýkají *S. cerevisiae*, všechny práce se zabývají savčími buňkami. O transkripční kontrole u *S. cerevisiae* není nic známo?

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

### Materiál a metody:

*Odpovídají použité metody experimentální kapitole?* ANO

*Kolik metod bylo použito?* Asi 12, jsou zastoupeny kultivace, výsevy, růstové křivky, práce s DNA, fluorescenční mikroskopie. Autor použil také nový software, který mu umožnil kvalitní kvantitativní vyhodnocování tvorby a rozkladu SG.

<p><i>Jsou metody srozumitelně popsány?</i> ANO</p> <p>1/ Domnívám se ale, že v Tab.2 (seznam použitých kmenů) jsou možná chyby – např. kmeny 1369 a 1372 – mají nefunkční <i>tif51A</i> a gen <i>ABP</i> vložený do <i>kanMX</i>?</p> <p>2/ Proším o vysvětlení principu testování párovacího typu buněk (str.40).</p>
<p><b>Experimentální část:</b></p> <p><i>Je vysvětlen cíl experimentů?</i> ANO, velmi pěkně</p> <p><i>Je dokumentace výsledků dostačující?</i> ANO, jsou prezentovány pomocí kvalitní fotografické dokumentace a grafů a následně dobře slovně popsány.</p> <p><i>Postačuje množství experimentů k získání odpovědi na zadané otázky?</i></p> <p>ANO, primární výsledky jsou vždy podpořeny pokusy opakovanými s různými kmeny, za různých podmínek nebo jiným způsobem.</p> <p>Celá kapitola se velmi dobře čte.</p>
<p><b>Diskuze:</b></p> <p><i>Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků?</i> ANO - 5str.</p> <p><i>Jsou výsledky porovnávány s literaturou?</i> ANO, někde by možná mohlo být více odkazů na literaturu. Příklad: str.83: „Stav aktinu funkčně souvisí se stavem translace“ – bez citace.</p> <p>Ve dvou případech jsou komentáře k výsledkům uvedeny už přímo v experimentální části, v části diskuze se pak opakují i s odkazy na literaturu.</p> <p><i>Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky?</i> NE</p>
<p><b>Závěry (Souhrn) :</b></p> <p><i>Jsou výstižné?</i> ANO</p> <p>Souhrn je jasný, srozumitelný i bez předchozího studia kapitoly Results.</p>
<p><b>Formální úroveň práce</b> (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):</p> <p>Práce je psána anglicky, podle mého názoru dobrou angličtinou.</p> <p>Obrazová dokumentace je velmi kvalitní, až na Tab. 1 v literárním přehledu.</p> <p>Je však škoda, že autor zřejmě ve stresu při dokončování textu nepoužil možnost kontroly jazyka – v práci se poměrně často vyskytují „překlepy“ – hlavně chybějící písmena ve slovech.</p> <p>Další drobné formální nedostatky se týkají:</p> <p>1/ Chyby v nepoužití kurzívy u <i>S. cerevisiae</i> – např. str.29, 71.</p> <p>2/ Tab. 5 na str. 44 – označení kmenů je neúplné.</p> <p>3/ Autor nedodrhuje v některých případech správný způsob psaní označení proteinů – např. str. 21- <i>Gcn2</i> kináza – místo <i>Gcn2</i>.</p> <p>4/ V práci není dodržováno jednotné označování studovaného translačního faktoru a jeho mutované formy – vyskytují se varianty <i>eIF5</i>, <i>eIF5A</i>, <i>eIF51A</i> (např. str. 26 a 27), ale i místo <i>eIF5A-3</i> (nebo <i>eIF51A-3</i> ?) jen <i>A-3</i> (str. 66, 67, 71).</p> <p>Proším o vysvětlení rozdílu mezi <i>eIF5A</i> a <i>eIF51A</i>.</p> <p>5/ Náhodou jsem našla chybu v referencích : Li, 2014, Genetics, posléze ještě u Williamson,1994.</p>
<p><b>Splnění cílů práce a celkové hodnocení:</b></p> <p>Adam Hlaváček přináší řadu nových zjištění týkajících se role faktoru <i>eIF5</i> v tvorbě SG i vlivu jeho mutované formy na růst, přežití buněk a chování aktinu během teplotního šoku a po něm. Cíle práce byly bezesporu splněny.</p> <p><b>Adam Hlaváček beze sporu prokázal, že je schopen se orientovat v literárních pramenech, pracovat experimentálně v laboratoři a své znalosti a výsledky zhodnotit a</b></p>

**sepsat na patřičné úrovni. Proto doporučuji, aby jeho práce byla přijata jako diplomová práce.**

**Otázky a připomínky oponenta:**

1/ Str. 28 literárního přehledu – Není jasné, zda strukturální model translačního faktoru eIF5A variant zpracoval autor? Jde o model kvasinkového faktoru? Není zde uvedeno, že substituce v A-3 mutantu vede také k termosensitivnímu fenotypu, s čímž se pracuje následně v experimentální práci.

2/ Proč byly v různých pokusech používány různé kultivační teploty (jde o práci s ts mutantem). Na pevném médiu 25°C (str. 32 a 67), kdežto v tekutém před teplotním šokem 28°C (str. 33,34,67) – proč ne také 25°C?

3/ Prosím o podrobnější vysvětlení různě barevných oblastí na obr. 11 (str.49).

4/ Při testování rychlosti růstu se kmeny nesoucí plasmid kultivovaly v komplexním, neselektivním YPD médiu při 28°C po dobu 16 hodin. Nemohlo docházet ke ztrátám plasmidu?

5/ K nesrovnalostem při testování životaschopnosti buněk pomocí propidium jodidu a výsevu: – propidium jodid barví buňky s propustnou plasmatickou membránou. Buňky, které nebyly schopny vytvořit kolonii však musely být také nějak poškozeny. Dalo by se zjistit, ev. nezjišťovali jste, jaký problém měly tyto buňky?

6/ Mohla by tvorba SG znamenat pro buňku také nevýhodu? – viz lepší přežívání mutanty po teplotním šoku.

7/ Máte nějaké vysvětlení pro to, že aktinová vlákna u mutanty svítí intenzivněji než u kmene s funkčním eIF5A faktorem?

Návrh hodnocení školitele nebo oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis školitele/opponenta:

