

Posudek oponenta

Autor práce: Bc. Zuzana Macháčová

Název práce: Role proteinového komplexu P97/NPL4 při opravě poškozené DNA

Typ práce*: Diplomová práce

	Kritérium hodnocení	Hodnocení						
		A	B	C	D	E	F	nelze hodnotit
1	rozsah práce, vyváženost rozsahů jednotlivých částí a jejich strukturovanost	X						
2	kvalita literární rešerše (např. množství použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru)	X						
3	naplnění cílů podle zadání práce a poznatků z literární rešerše	X						
4	správnost a úplnost legend u obrázků a tabulek (např. srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)							
5	správnost používání citačních odkazů (např. přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací)	X						
6	výstižnost souhrnu práce v českém a anglickém jazyce		X					
7	grafická úprava textu a obrázků	X						
8	jazyková a stylistická úroveň, respektování platné nomenklatury a terminologie		X					
9	volba vhodných experimentálních metod	X						
10	srozumitelnost a výstižnost popisu používaných metod	X						
11	úroveň zpracování experimentálních dat	X						
12	adekvátnost interpretace dílčích experimentálních dat	X						
13	diskuze (souhrn získaných výsledků a jejich začlenění do kontextu dosavadního výzkumu)		X					

Poznámka 1: Pokud charakter práce nedovoluje použít některé z Kriterií hodnocení, použijte sloupec "nelze hodnotit"

Poznámka 2: Hodnocení křížkujte

Poznámka 3: Do výsledné známky se započítávají jen hodnotitelné položky

* - vyberte „bakalářská“ nebo „diplomová“

**Známka
(A-F)**

A

Konkrétní připomínky a dotazy (možno připojit samostatný list), slovní zhodnocení proč oponent hodnotil tímto způsobem (zejména při horším známkování)

Predloženú prácu Bc. Zuzany Macháčovej hodnotím veľmi pozitívne, ako po obsahovej tak aj po experimentálnej stránke. V práci sa vyskytuje niekoľko jazykových a stylistických chýb (používanie rakovina/rakovinný namiesto vhodnejšieho nádor/nádorový; nepresné preklady z angličtiny; veľmi zložité vetné skladby a pod.), ktoré však nijak neznižujú celkové vyznenie diplomovej práce. Práca je logicky štruktúrovaná do jednotlivých kapitol podľa obvyklých pravidiel. V rozsiahlom literárnom prehľade autorka sumarizovala aktuálne poznatky

týkajúce sa degradačného bunkového systému Ubikvitin-proteazom, jeho neoddeliteľnej súčasti- proteínového komplexu P97/NPL4 so súčasným prepojením na opravné mechanizmy DNA. Cieľom diplomovej práce bolo bližšie špecifikovať úlohu proteínového komplexu P97/NPL4 v oprave poškodenej DNA, s následným využitím získaných poznatkov v ďalších experimentoch na meranie cytotoxicity inhibítora P97- CB5083 v kombinácii s IR a bežnými chemoterapeutikami. Oceňujem grafické spracovanie experimentálnych dát do prehľadnej formy v kapitole „Výsledky“, ktoré sú následne diskutované s najnovšími poznatkami v kapitole „ Diskuze“. V kapitole „Závěr“ sú stručne zhrnuté pozorovania vychádzajúce z práce, na druhej strane návrh smerovania ďalšieho výskumu v tejto oblasti by prácu ešte viac obohatil.

K práci mám nasledujúce otázky:

1. V teoretickej časti práce, študentka viac krát spomína nepreukázanú klinickú účinnosť inhibítorov proteazomu v solidných nádoroch v porovnaní s efektivitou u hematologických malignít. Čím je táto rezistencia v solidných nádoroch spôsobená? Je tento fenomén podobný aj u inhibítora P97- CB5083?
2. V praktickej časti práce autorka popisuje zvýšenú rýchlosť rekrutovania GFP-značeného proteínu P97 do laserom indukovaných stripov po presenzitizácii Hoechstom33258 v porovnaní s presenzitizáciou použitím 8-MOP a BrdU. Čím by mohla byť zmena dynamiky proteínu P97-GFP v bunkách s týmto konštruktom v prípade Hoechstu33258 vyvolaná?
3. V kapitole 5.2.6 výsledkov autorka porovnáva väzobnú aktivitu proteínu NPL4 v bunkách U2OS s „Wild Type“ (WT NPL4-GFP) formou a mutantnou formou proteínu NPL4 (C-term-MUT NPL4-GFP), ktorá obsahuje mutáciu v ubikvitín- väzobnej doméne s motívom zinkových prstov (NZF). Bol v mieste laserového poškodenia DNA v mutantnej línii pozorovaný slabší fluorescenčný signál GFP-značeného proteínu NPL4? Ak jasne pozorovaný nebol, akým spôsobom by mohlo dochádzať k väzbe proteínu NPL4 k miestam indukovaného poškodenia v prípade deficitu/mutácie v jeho ubikvitín-väzobnej doméne?
4. Autorka v práci ukazuje na synergický účinok inhibítora P97- CB5083 s ionizujúcim žiarením a s chemoterapeutikami cisplatinou a doxorubicinom. CB5083 ale nepotencioval účinok inhibítora kľúčovej opravnej kinázy ATR. Mohla by autorka vysvetliť ako k synergickému účinku inhibítora P97 a spomínaných chemoterapeutík dochádza a prečo v prípade ATR inhibítora tento efekt pozorovaný nebol?

Závěr: práci doporučuji k obhajobě

V Olomouci dne: 19.05.2021

Podpis: Mgr. Katarína Chromá, Ph.D.

