

## POSUDEK OPONENTA NA DOKTORSKOU DISERTAČNÍ PRÁCI

Název práce: **Methylace virálních RNA**

Studentka: Mgr. Anna Šimonová

Oponent: prof. Dr. RNDr. David Sýkora

Disertační práce Mgr. Anny Šimonové se věnuje aktuální tematice, získávání informací o nových RNA modifikacích a pochopení funkce těchto modifikací v organismu. Práce má obvyklé členění. V teoretické části autorka čtenáře uvádí do oblasti problematiky nukleových kyselin a jejich modifikací, diskutuje pojem "epitranskriptomika" a roli m<sup>6</sup>A v buňce. Dále popisuje metody použitelné pro detekci modifikací, především techniku kapalinové chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií (LC-MS) a RNA sekvenační techniky. V závěrečné části úvodu je pozornost věnována vybraným virům a jejich modifikacím. Celá kapitola čítá 47 stran. Následuje představení hypotézy a cílů práce. V další kapitole je na deseti stranách podán soupis použitého materiálu a popsána aplikovaná metodika. Výsledková část a diskuse je provedena na přibližně dvaceti pěti stranách a práci uzavírá stručný závěr.

Celá disertační práce je napsána přehledně a čtivě. Množství gramatických chyb a formálních nedokonalostí je poměrně malé. Grafická úprava je pěkná.

K práci mám následující komentáře a připomínky. Na straně 25 je uprostřed strany odstavec, který se od ostatního textu odlišuje tím, že obsahuje nejen obsahové nepřesnosti a neobratnosti, ale i hrubou gramatickou chybu. V textu se např. tvrdí, že hmotnostní spektrometrie "byla objevena" v 60.-70. tých letech. V kapitole 3.1, Laboratorní přístroje a pomůcky, není jasná logika řazení. Ze zápisu je zřejmé, že položky nejsou řazeny abecedně, ale ani podle důležitosti. Považoval bych za rozumné nejprve uvést nejdůležitější přístroje a následně pak až další pomůcky. V Tab. 2 je uvedeno, že průtok na koloně při kapalinové chromatografii byl 0,5 ml/min, ale v originální publikaci je uvedeno 0,05 ml/min. Na straně 68 autorka hovoří o "kvantitativním stanovení", nicméně výraz "stanovení", sám o sobě, znamená v analytické chemii kvantifikaci analytu. Není příliš jasné, proč je struktura Tab. DI1 odlišná od Tab. DI3, když obě shrnují stejný typ informací. Navíc v Tab. DI3 je nesprávně používán termín "hmota" (daleko vhodnější je termín "hmotnost") a pak jsou v jednom sloupci uváděny údajné struktury fragmentů a ve vedlejším jejich hmotnosti a následně ještě vedle hmotnosti detekované. Taková struktura tabulky je formálně nesprávná, protože údajné fragmenty, tak jak je jejich struktura zapsána v tabulce, jsou neutrální molekuly, a jako takové nemohou být detekovány hmotnostním spektrometrem. Poslední

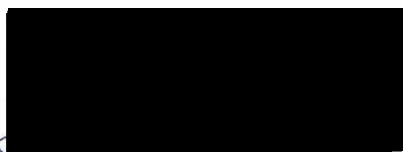
komentář: přestože LC-MS představuje zásadní část disertace, není zvolená metoda LC-MS analýzy dostatečně popsána, vysvětlena a zdůvodněna nejen v publikacích, ale ani ve vlastní práci, kde k tomu byl dostatečný prostor. Proto si dovoluji položit na uvedené téma následující otázky.

- 1) Pro analýzu nukleosidů byla využita fragmentace přímo v ESI zdroji a následně byly extrahovány vybrané ionty s hodnotami  $m/z$  odpovídajícími dominantnímu fragmentu daného nukleosidu. Proč byl použit tento postup? Synapth je velmi pokročilý hybridní spektrometr kombinující kvadrupólový analyzátor s TOF, navíc vybavený také iontovou mobilitou, ale použitá metoda by mohla být stejně dobře praktikována jen na jednoduchém TOF MS. Proč nebyl například na prvním kvadrupólu vybrán příslušný prekurzor odpovídajícího nukleosidu a následně provedena jeho fragmentace v kolizní cele a snímány produkty na TOF analyzátoru? Nevedlo by to k lepší selektivitě?
- 2) Byl při kvantifikaci reálných vzorků zahnut matricový efekt, tedy jeho vliv na signál u reálných vzorků? Jinými slovy, jak byla provedena kalibrace a následné měření reálných vzorků?

Přes výše specifikované poznámky se jedná o kvalitní disertační práci a kandidátka prokázala schopnost samostatné vědecké práce. Disertační práce je podložena dvěma publikacemi v kvalitních impaktovaných časopisech, ve kterých je autorka uvedena na prvním místě. Cíle zadání práce byly splněny. Obě práce přinášejí zajímavé a přínosné výsledky.

Celkově lze shrnout, že kandidátka splnila požadavky kladené na disertační práci a doporučuji ji k obhajobě.

V Praze, 14. listopadu 2023



prof. Dr. RNDr. David Sýkora

Vysoká škola chemicko-technologická  
Ústav analytické chemie  
Technická 5  
166 28 Praha