



Univerzita Karlova v Praze  
Lékařská fakulta v Hradci Králové  
Ústav lékařské biologie a genetiky

---

## OPONENTSKÝ POSUDEK K DISERTAČNÍ PRÁCI

- Autor práce:** MUDr. Markéta Kostrouchová, Univerzita Karlova Praha  
3. lékařská fakulta
- Téma práce:** Regulace genové exprese a biologického chování buněk:  
potenciál podjednotky 28 Mediátorového komplexu  
(Regulation of gene expression and biological properties  
of cells: the potential of Mediator complex subunit 28)
- Školitel:** prof. MUDr. Václav Mandys, CSc
- Studijní program:** Biologie a patologie buňky

Předložená dizertační práce předkladatelky MUDr. Markéty Kostrouchové se zabývá otázkou, zda se v genomu vybraného modelového organismu háďátka (*C. elegans*) nachází gen kódující Mediátorovou podjednotku MED28 a pokud ano, jaká je jeho regulační funkce, a to i ohledem na jeho subcelulární lokalizaci. Celá práce je pomyslně rozložena na tři části. Část bioinformatickou, která se zaměřila na identifikaci daného genu (proteinu) a jeho klasifikační zařazení na specifické databáze. Další část práce pak řeší biologické vlastnosti proteinu MDT-28, např. jeho úlohu při vývoji a růstu s ověřením jeho buněčné topografie a interaktivity s dalšími Mediátorovými podjednotkami MDT-6 a MDT-30. V třetí části, která kombinuje bioinformatické i experimentální přístupy, je ověřena predikovaná acetylace tohoto proteinu jako regulační mechanismus nukleární lokalizace prostřednictvím inhibitoru histonových deacetyláz kyseliny valproové. Výsledky práce jsou shrnuty v celkem třech publikacích uveřejněných v impaktovaných časopisech, kde je předkladatelka 2x na prvním místě a 1x mezi spoluautory a dále v jedné další práci, která se k danému tématu vztahuje (předkladatelka je mezi spoluautory).

Svým zaměřením i řešeným tématem se rezenzovaná je práce zařazuje do molekulárně biologického základního výzkumu. Mezi nesporná pozitiva patří návaznost jednotlivých experimentálních přístupů studia, které zahrnují bioinformatické nástroje k *in silico* predikci struktury, chování i lokalizaci daného proteinu až po mechanistické ověření těchto vlastností v modelech *in vitro* a finálně *in vivo*. Autorka práce prezentuje velmi rozsáhlou šíři metodik a vědeckých postupů využívajících moderních i tradičních molekulárně biologických a chemických nástrojů a výpočetních analýz. V tomto ohledu nemá recenzent k daným metodikám a jimi získaným výsledkům zásadní připomínky. Na druhou stranu je pravda, že se tak rozsáhlý metodický záměr odráží v metodicky popisné části vlastní práce, která se tímto stává nevyváženou a blíží se spíše k vědeckému článku. Na základě prezentovaných výsledků lze též obecněji diskutovat o tom, zda lze výsledky získané z tohoto modelu vztáhnout i k savčí variantě tohoto genu a zda zjištěný vliv na vývoj organismu v případě *C. elegans* by se dal do jisté míry předpokládat i v případě savců/člověka.

Formální stránka práce je standardní a odpovídá svým rozsahem i členěním na jednotlivé části (sekce) daným požadavkům. Vlastní jazyková stránka práce nevykazuje významnější prohřešky, i když je pravda, že text je místy díky velmi složitým souvětím poněkud obtížněji čitelný. Je také škoda, že se předkladatelka nevyhnula typickým výrazovým prohřeškům („from its discovery – správně since its discovery). Otázkou zůstává, zda by si práce byla zasloužila stylistickou korekci nejlépe rodilým mluvčím.

Z dalších formálních výtek bych uvedl:

- Nedeklarované mikroskopické zvětšení u mikrofotografií; v některých případech pak prezentované mikrofotografie svojí velikostí neumožňují ověřit cytoplazmatickou či/a nukleární lokalizaci studovaného proteinu
- Nesourodé uvádění výrobců či producentů chemikálií, přístrojů a kitů
- Ne vždy standardní grafická úprava fotodokumentace
- Nedeklarované využití statistických nástrojů a podrobnější popis statistického hodnocení významnosti získaných dat, např. u výsledků prezentovaných vizuální formou (mikrofotografie) nelze vždy přesně určit nakolik jsou významné (zda se jedná o opakované zjištění, kolikrát na jakém souboru jedinců atd.)

Kromě těchto komentářů mám k práci následující dotazy:

1. Co vedlo autorku ke studiu stávajícího genu/proteinu?
2. Lze se domnívat, že ostatní Mediátorové podjednotky budou mít podobný význam při vývoji a růstu organismu?
3. Jaký je podíl autorky na prezentované experimentální práci

*Závěrem lze konstatovat, že prezentovaná disertační práce splňuje požadavky kladené na disertační práci v oboru Biologie a patologie buňky. Uchazečka prokázala samostatné tvůrčí schopnosti i ochotu a schopnost spolupracovat v rámci širšího vědeckého kolektivu, což je patrné nejenom z práce samotné, ale i z jeho publikační aktivity. Uvedenou práci doporučuji k obhajobě a zároveň doporučuji uchazečku MUDr. Markétu Kostrouchovou k dalšímu řízení k získání titulu Ph.D.*

v Hradci Králové 10.6. 2019

prof. PharmDr. Emil Rudolf, Ph.D.