

## Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: Bc. Lucie Sovíčková

Název práce: Cirkadiánní systém a m6A metylace RNA

Jméno a příjmení oponenta (včetně titulů): RNDr. Markéta Hlaváčková, Ph.D.

**A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce** (označit křížkem **jednu** z možností - pomocí dojkliknutí levým tlačítkem myši na šedivě podbarvené pole a výběrem hodnoty "zaškrtnuto")

### 1. Rozsah práce a její členění

<b>A</b>	přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí	<input checked="" type="checkbox"/>
<b>B</b>	nevyrovnané, členění nelogické nebo rozsah některých částí nekoresponduje s jejich významem	<input type="checkbox"/>
<b>C</b>	uspokojivé, rozsah některých částí nedostačující	<input type="checkbox"/>
<b>N</b>	nedostatečné	<input type="checkbox"/>

### 2. Odborná správnost

<b>A</b>	výborná, bez závažnějších připomínek	<input checked="" type="checkbox"/>
<b>B</b>	velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (např. nejasnost výkladu, chyby v terminologii, nedokonalý popis metod nebo výsledků)	<input type="checkbox"/>
<b>C</b>	uspokojivá, s čtenějšími drobnými závadami	<input type="checkbox"/>
<b>N</b>	nevyhovující, s hrubými chybami	<input type="checkbox"/>

### 3. Uvedení použitých literárních a jiných zdrojů

<b>A</b>	adekvátní, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce	<input checked="" type="checkbox"/>
<b>B</b>	uspokojivé, s občasnými neobratnostmi (zejm. v umístění odkazů) nebo s celkově nižším počtem citací	<input type="checkbox"/>
<b>C</b>	s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat	<input type="checkbox"/>
<b>N</b>	nevyhovující, velmi málo citací, eventuálně rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu) nebo používání neadekvátních citací	<input type="checkbox"/>

### 4. Jazyk práce

<b>A</b>	výborný, práce napsaná čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických nebo pravopisných chyb	<input checked="" type="checkbox"/>
<b>B</b>	velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby	<input type="checkbox"/>
<b>C</b>	uspokojivý, čtenější slohové neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné nebo nejednoznačné formulace	<input type="checkbox"/>
<b>N</b>	nevyhovující, s četnými hrubými chybami	<input type="checkbox"/>

## 5. Formální a grafická úroveň práce

<b>A</b>	výborná, bez překlepů a chyb ve formátování	<input checked="" type="checkbox"/>
<b>B</b>	velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky, apod.	<input type="checkbox"/>
<b>C</b>	uspokojivá, s ojedinělými většími nedostatky (např. vynechání stránky, uvádění obrázků grafů nebo tabulek bez odkazů v textu) nebo s čtenějšími drobnými chybami	<input type="checkbox"/>
<b>N</b>	nevyhovující, s četnými hrubými chybami	<input type="checkbox"/>

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5.:

Diplomová práce Bc. Lucie Sovíčkové si kladla za cíl sledovat vliv inhibice demetylázy ALKBH5 v centrálním regulátoru cirkadiálního systému, suprachiasmatických jádrech, na expresi hodinových genů (*Per2*, *Bmal1*, *Nr1d1*) a dalších souvisejících genů (*Socs3*, *Stat3*, *Gfap*).

Výzkum m6A metylace v kontextu cirkadiálního systému je relativně novou oblastí studia, která se začala rozvíjet teprve v posledním desetiletí. Experimenty zahrnující inhibici ALKBH5 a její vliv na expresi cirkadiálních a dalších souvisejících genů přinášejí nové poznatky, které dosud nebyly publikovány. Tento aspekt práce má vysoký potenciál přispět k lepšímu porozumění mechanismům regulace cirkadiálního rytmu prostřednictvím epitranskriptomických modifikací.

Práce se zaměřuje na vliv ALKBH5 v suprachiasmatických jádrech potkanů a také PER2::LUC myši, což přidává další vrstvu specifičnosti a novosti vzhledem k tomu, že většina výzkumu v této oblasti byla prováděna na jiných tkáních nebo buněčných typech.

Diskuse obsahuje srovnání s jinými studiemi, které se zabývají vlivem jiných demetyláz (jako FTO) a metyláz (METTL3) na cirkadiální rytmus. To ukazuje na hloubku výzkumu a snahu propojit nové poznatky s existujícím vědeckým rámcem.

Celkové zpracování práce zcela odpovídá požadavkům; v textu jsem zaznamenala jen pár drobností pro zvážení do budoucna.

- U popisu regulačních proteinů m6A modifikace nezmiňujete tzv. “repelled proteins”, které upřednostňují vazbu na nemodifikovanou m6A RNA a ovlivňují tak její osud.
- V českém textu bych doporučila používat spíše výraz „cytosolický“ než „cytosomální“.
- Formát sloupcových grafů bych volila jednotný; preferovala bych formát, který se vyskytuje pouze v grafu Obrázku 17/C s vyznačením jednotlivých hodnot měření.

### B. Obhajoba - dotazy k obhajobě

1. V metodice uvádíte normalizaci RT-qPCR na „úroveň průměru housekeeping genů *Ppia* a *Gapdh*“. (Pozn.: V literatuře týkající se normalizace exprese genů se spíše doporučuje používat termín „referenční“ gen namísto „housekeeping“ gen. Bustin, S.A., et al., *The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments*. Clin Chem, 2009. 55(4): p. 611-22.) Testovali jste, zda jsou tyto geny pro vaše experimenty a tkáň vhodné? Vykazují tyto geny stabilitu během cirkadiálního rytmu?
2. Jaké jsou možné důvody pro nedetekování rytmu exprese genu *Per2* v kontrolních vzorcích u potkanů? Může být absence rytmu způsobena technickými faktory, nebo biologickými rozdíly?

3. Jaké faktory mohly ovlivnit skutečnost, že nebyl pozorován rozdíl v amplitudě a periodě rytmu exprese genu Per2 v SCN myši po ALKBH5 siRNA, přestože u potkanů byly zaznamenány signifikantní změny? Chystáte se v této problematice pokračovat a tyto výsledky ověřit?
4. V práci bylo naznačeno, že inhibice ALKBH5 by mohla mít vliv na délku cirkadiánní periody, přestože nebyly pozorovány signifikantní rozdíly. Jaké experimenty by bylo vhodné provést k potvrzení nebo vyvrácení této hypotézy?
5. Jaké konkrétní oblasti by měly být podle Vás dále zkoumány v souvislosti s vlivem ALKBH5 na cirkadiánní systém a m6A metylaci, aby byly lépe pochopeny její role?

### Stanovisko k opravě chyb v práci

– opravný lístek/oprava v textu **JE** / **NENÍ** podmínkou přijetí práce (nehodící se škrtněte)

### C. Celkový návrh

Práci **doporučuji** k přijetí k dalšímu řízení: **ANO** / **NE** (nehodící se škrtněte)

Navrhovaná celková klasifikace (ve standardní stupnici 1 až 4): **1**

Datum vypracování posudku: 6.9.2024

Podpis oponenta: