

Hodnocení bakalářské práce Michaely Veselíkové „Riboswitch jako všestranný kontrolní element genové exprese“

Předkládaná bakalářská práce je literární rešerší, zaměřenou na atraktivní téma ligand – vazebných a regulačních RNA elementů „riboswitch“. Autorka v práci shrnuje nejnovější poznatky v oblasti výzkumu riboswitchů, přičemž cituje řadu recentních prací, publikovaných v renomovaných vědeckých časopisech.

Rešerše je sepsána úpravně a přehledně, srozumitelným způsobem seznamuje čtenáře s řešenou problematikou. Autorka v bakalářské práci obecně charakterizuje ligand - vázající molekuly RNA a uvádí přehled typů riboswitchů. V dalších kapitolách detailně popisuje strukturu 10 přirozených riboswitchů a jejich ligandů a mechanismus jejich funkce v regulaci genové exprese. Vše je doplněno názornými obrázky s přehlednými popisky, což usnadňuje orientaci a porozumění textu. Závěr práce je zaměřen na syntetické aptamery a možnost jejich praktického využití v oblasti molekulárně biologických a biochemických metod.

K práci jako celku nemám žádné vážné kritické připomínky, nicméně bych se chtěl dotázat nebo upozornit na následující:

- Ve třetím odstavci kapitoly 3.2 je uveden mechanismus regulace Thiamin pyrofosfátového (TPP) riboswitch: „V nepřítomnosti TPP je jednovláknová SD sekvence **blokována** vzdálenou interakcí anti-SD a anti-anti-SD sekvencí.“ Aby toto tvrzení korespondovalo s Obr.12, mělo být napsáno „...**odblokována**...“.
- V kapitole 3.3, zabývající se flavin mononukleotidovým (FMN) riboswitchem, je ve čtvrtém odstavci popsán mechanismus regulace jako **zablokování SD sekvence** v přítomnosti ligandu a z toho vyplývající **terminace transkripce**. Toto tvrzení není v textu následováno citací. Podle Winkler *et al.* (2002, *PNAS* 99:15908-) existují dva rozdílné mechanismy regulace: 1. na úrovni transkripce (zformování terminátoru v přítomnosti FMN – u *ribD* mRNA) a 2. na úrovni translace (zablokování Shine-Dalgarno sekvence v přítomnosti FMN – u *ypaA* mRNA).
- U Obr.14 v kapitole 3.3 nesouhlasí popis s obrázkem: není zobrazeno „Schéma mechanismu regulace transkripce vazbou anti-SD a anti-anti-SD sekvencí.“ Blokování SD sekvence navíc reguluje expresi na úrovni translace (viz. předchozí bod).
- Dochází u riboswitch také k jevu zvanému „induced fit“ (tedy konformační změně vazebného místa po navázání ligandu), podobně jako v případě interakcí ligand + protein, nebo se všechny konformační změny odehrávají pouze v expresní doméně?
- Jaký je princip metody SELEX?
- V práci je zmiňována schopnost aptamerů vysoce specificky odlišovat analogy ligandů. Zároveň se však uvažuje o vývoji léčiv (analogů ligandů) zacílených na bakteriální riboswitch. Do jaké míry jsou tyto snahy úspěšné?
- Syntetické aptamery lze využít jako alternativu k monoklonálním protilátkám, je uváděna řada jejich výhod. Dosud však k takovému účelu nejsou ve větším měřítku používány. Jaká jsou omezení, bránící tomuto jejich použití?

Na základě předkládané práce mohu konstatovat, že Michaela prokázala schopnost pracovat s odbornou literaturou a schopnost poznatky utřídit do formy literární rešerše. Proto navrhuji, aby bakalářská práce byla přijata k obhajobě.

Mgr. Jan Ryneš
Entomologický ústav AV ČR
Branišovská 31
370 05 České Budějovice

České Budějovice, 30.5.2008

