

## **Posudek školitele na diplomovou práci Ondřeje Gahury: “Synteticky letální interakce genu *PRP45* v *Saccharomyces cerevisiae*”.**

V naší laboratoři studujeme mj. funkční strukturu proteinu *S. cerevisiae* Prp45. Přestože je tento protein orthologní savčímu transkripčnímu koregulátoru SNW/SKIP, v pučící kvasince byl popsán jako esenciální součást spliceosomu. Prokázány byly rovněž dvouhybridní interakce s spliceosomálními komponentami, proteiny Prp46, Syf3 a Prp22. V rámci studia proteinu Prp45 jsme připravili deleční mutaci, která způsobuje zástavu růstu kvasinkových buněk za zvýšené teploty.

Cílem práce Ondřej Gahura bylo s využitím této mutace studovat genetické interakce *PRP45*. K tomu je *S. cerevisiae* vhodným organismem. Díky propracovanosti genetiky lze interakce identifikovat technikou, která se v anglickém jazyce nazývá „Synthetic Lethal Screen“ (snad tedy „vyhledávání synteticky letálních mutací). Tato technika však nebyla až dosud v laboratoři zavedena, a neměli jsme ani možnost zavedenou metodu převzít. Ondřej se však velmi rychle v problematice zorientoval, zvládl potřebné dílčí metodické postupy a nakonec získal i velmi hodnotné výsledky.

Nejprve metodami klasické kvasinkové genetiky (křížení, tetradová analýza) připravil kmen nesoucí, vedle delece v genu *PRP45*, potřebné další mutace. Tento kmen pak použil k hledání mutant nesoucích podmíněně letální mutace, přičemž vyzkoušel oba možné přístupy, cílený i systematický. Oba přístupy se ukázaly být plodnými, Ondřej zjistil a ověřil interakce hned s několikolika proteiny spliceosomu, z nich některé byly dříve známé a další lze považovat za prioritní. Tyto výsledky, společně s výsledky získanými afinitní purifikací, na jejímž zavedení se rovněž podílí, ukazují na pravděpodobnou způsob, jakým se Prp45p uplatňuje ve výstavbě a funkci spliceosomu.

Prokázal rovněž velmi dobré schopnosti formulační a stylistické, když text diplomové práce připravil zcela samostatně. Moje účast na finalizaci práce byla minimální a v podstatě jen formální. Text je dle mého názoru přehledný, čtivý a výstižný.

Ondřej jednoznačně prokázal, že je studentem vysoce inteligentním, pracovitým, prodchnutým nadšením a cílevědomostí. Za odvedenou práci mu patří můj dík.

Práci doporučuji k přijetí.

V Praze, dne 27.5.2006

RNDr. František Půta, CSc.

