

Posudek školitele na diplomovou práci

školitelský posudek

Jméno školitele:
Taťána Majerová

Datum:
3.7.2020

Autor: Eliška Fürst

Název práce:

Ubikvitin-proteazomální systém ve studiích jeho inhibice a jeho využití v buněčné eseji měřící aktivitu virové proteázy

Zadané cíle práce, včetně tématu literárního přehledu:

Práce se týká ubikvitin-proteasomového systému a možností jeho využití pro farmakologické a biotechnologické účely.

První část práce byla vypracovávána během pobytu v Karolinska Institutet v laboratoři prof. Nica Dantumy v rámci programu ERASMUS. Týká se studia možného mechanismu účinku látky CBU79, nalezené v knihovně inhibitorů pomocí buněčného reportéru, který využívá ubikvitin-proteasomovou dráhu.

Druhá část práce byla vypracována převážně na Ústavu organické chemie a biochemie AV ČR. Zde jsme uplatnili získané poznatky o ubikvitin-proteasomovém systému k návrhu buněčného reportéru, vhodného pro screening inhibitorů (a/nebo mutantů) Zika proteasy, který využívá rychlé degradace fluorescenčního proteinu. Mezi degradační signál a fluorescenční protein bylo vloženo štěpné místo pro proteasu viru Zika. V přítomnosti aktivní Zika proteasy dojde k růstu fluorescence transfekovaných buněk díky stabilizaci fluorescenčního proteinu prostřednictvím proteolytického odstranění degradačního signálu. Cílem práce bylo připravit a otestovat různé varianty tohoto reportéru.

Přístup studenta k práci s literaturou:

Eliška pracovala samostatně, iniciativně, vyhledávala v literatuře relevantní informace, aktivně se zapojovala i do „Journal clubs“ v Karolinske a na ÚOCHB. Je spoluautorkou review v impaktovaném časopise.

Přístup studenta k práci v laboratoři:

Eliška se ráda učila novým věcem a ráda čelila novým výzvám. Iniciativně přidávala další experimenty. Po počátečním učení pracovala zcela samostatně, pečlivě a spolehlivě. V laboratoři strávila mnohem více času, než je předepsaný počet hodin na diplomový projekt.

Přístup studenta při sepisování práce:

Sepisování práce bylo započato s dostatečným předstihem, autorka zhodnotila průběžné studium odborné literatury, pracovala samostatně, všechny obrázky (i v teoretické části) jsou původní prací autorky.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

V první části práce byl studován možný mechanismus působení látky CBU79. Bylo hodnoceno celkové množství proteinu v buňkách s a bez inhibitoru pomocí metabolického značení, dále vzájemná interakce této látky s inhibitory o známém mechanismu účinku a možné ovlivnění buněčné odpovědi na nesbalené proteiny (UPR).

Autorka přispěla k optimalizaci podmínek pro screen knihovny knock-out mutantních buněk, který umožnil identifikovat potenciální cílové proteiny CBU79.

Druhá část práce se týkala konstrukce navrženého reportérového systému pro screen inhibitorů/mutantů Zika proteasy. V průběhu práce byly rekombinantními technikami připraveny různé varianty reportérů, jejich funkčnost byla zhodnocena pomocí průtokové cytometrie, Western blotu a mikroskopie. Autorka prokázala funkčnost reportéru, na její práci navážeme a budeme se snažit zvýšit citlivost daného systému. Předpokládáme, že autorčiny výsledky budou zahrnuty do publikace našeho pracoviště.

Cíle práce byly splněny a navrhuji hodnocení „výborně“.

Návrh hodnocení školitele:

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis školitele:

Tatjana Anželova