



V Praze dne 19. 5. 2023

**Školitelský posudek na diplomovou práci Bc. Elišky Pácalové na téma: „Identifikace bazolaterálních lokalizačních motivů urátového transportéru GLUT9 s využitím funkčních studií“**

Bc. Eliška Pácalová svou diplomovou práci vypracovala v laboratoři vývojové biologie. Cílem práce bylo ověřit význam *in silico* vtypovaných kanonických motivů pro bazolaterální zacílení transmembránových proteinů. Jako model byl zvolen glukózový kotransportér GLUT9 (SLC2A9), který je znám jako jeden z klíčových přenašečů kyseliny močové v tubulárním systému lidských ledvin. Eliška navrhla k testování již známé kanonické motivy 33LL34, 12LGL14 a 84YIKA87. Kromě toho bylo úkolem studentky také ověřit hypotézu, že lidská jednobodová mutace p.V114L (resp. V85L u krátké isoformy GLUT9) významně snižuje transport urátu, popřípadě že je tato mutace součástí dosud neznámé lokalizační sekvence. Vyjma těchto hlavních cílů se Eliška pokusila vyřešit otázku, do jaké míry závisí směr transportu urátu transportérem GLUT9 na složení kultivačních médií, resp. extracelulární tekutiny *in vivo*. Jako model pro testování těchto hypotéz byla zvolena buněčná linie HEK293A transientně transfekovaná vektorem nesoucím gen GLUT9 v přirozené podobě (WT) nebo obsahujícím jednotlivé sekvenční mutace.

Eliška Pácalová po celou dobu pracovala svědomitě a pečlivě a velmi oceňuji její samostatnost a aktivní přístup při četných diskusích nad návrhy jednotlivých experimentů. Práce si vyžadovala plné zapojení a splnění všech cílů je výsledkem zapálení Elišky pro studovanou problematiku a její houževnatosti.

Eliška Pácalová se za svého působení v Laboratoři vývojové biologie naučila rutinně používat poměrně komplikované metody jako je kultivace a transfekce buněčných kultur, metodiku funkčních studií s využitím radioaktivně značených substrátů, dále metody jako molekulární klonování, imunofluorescenční cytochemické barvení, western-blot, mutagenační PCR nebo izolace plasmidové DNA. Eliška se výborně zvládla vypořádat i s počátečními těžkostmi a podařilo se jí vypracovat obsáhlou diplomovou práci, podpořenou relativně velkým množstvím výsledků, na kterou bude možné navázat dalším výzkumem. Práci doporučuji k obhajobě s hodnocením „Výborně“.

Doc. RNDr. Ing. Vladimír Krylov, Ph.D.