

Školitelský posudek diplomové práce Bc. Yulie Arishaky

Diplomová práce Yulie Arishaky na téma *Identifikace nových tkáňově specifických interakčních partnerů chromatin remodelační ATPázy Smarca5* navazuje na dlouhodobý zájem naší vědecké skupiny porozumět funkci chromatin remodelační ATPázy Smarca5 v buněčné homeostáze a zárodočném vývoji organismu. V rámci tohoto projektu jsme v myších tkáních s konstitutivní expresí N-terminálně značeného proteinu Smarca5 ve spolupráci s našimi kolegy z Ústavu molekulární biologie identifikovali doposud funkčně nepopsaný gen Brd10 (Kiaa2026), u něhož jsme předpokládali, že by za určitých fyziologických podmínek mohl interagovat s proteinem Smarca5, a tímhle způsobem ovlivňovat jeho chromatin remodelační funkci.

Úlohou Yulie Arishaky bylo vzápětí pomocí ko-imunoprecipitace v lidských buněčných liniích HEK293 s expresí série delečních mutantů proteinu Brd10, které jsme spolu připravili, potvrdit tentativní interakci Brd10 a Smarca5. Jejím úkolem bylo taky potvrdit části proteinu Brd10, které se této interakce zúčastní a byly předpověděny pomocí bioinformatických analýz. K dosažení těchto cílů si Yulie musela osvojit základní metody molekulární biologie a biochemie, zejména práci s bakteriemi, lidskými buněčnými kulturami, transfekci expresních plazmidů, indukci exprese proteinů, přípravu vzorků, ko-imunoprecipitaci, immunoblotting, a v neposlední řadě také interpretaci dat, což se Yulii podařilo. Vzhledem k nedostatku současných informací o funkci a velmi nedostatečnému expresnímu profilu Brd10, Yulie taky provedla expresní profilování v několika buněčných typech a zárodečných stádiích u myši jak genu Brd10, ale také jejich potenciálních vazebných partnerů Smarca1 a Smarca5, což napovídá určité tkáňové specifitě komplexů Brd10-Smarca5 v myši. V posledním období Yulie provedla absolutní kvantifikaci transkriptů pomocí kvantitativní PCR, což výrazně pozdvihlo kvalitu jejích expresních dat a interpretaci výsledků zejména porovnání hladin genů, kterých expresi sledovala.

Yuliia velmi rychle porozuměla tématice a intenzivně pracovala s literaturou, což jí umožnilo diplomovou práci bez mých významných zásahů skvěle sepsat. Oproti predošlé verzi diplomové práci rozšířila experimentální a metodologickou část a upravila interpretaci výsledků a vymezila části které vzhledem na náročnost proveditelnosti potřebovala asistenci jejích kolegů. Nicméně, Yuliia si logistiku experimentů, manipulace s buněčnými kulturami a práci s experimentálními zvířaty velmi rychle osvojila, a byla proto schopna zcela samostatně pracovat a její přínos k tématu nemohu hodnotit jinak než výborně a doporučuji její práci k obhajobě.

Mgr. Juraj Kokavec, Ph.D.

BIOCEV, 1. lékařská fakulta UK