

Oponentský posudek na diplomovou práci

Jméno oponenta: RNDr. **Jan Brábek**, PhD.

Datum: 10.9.2008

Autor: Lenka Drozdíková

Název práce: Characterization of zebrafish ADAM12 and human membrane type metalloproteases: cloning, expression, purification and studies of proteolytic and ectodomain shedding activities

Cílem hodnocené práce bylo rozhodnout, zda modelový organismus Zebrafish (zebríčka) může být použit jako fyziologicky relevantní model pro studium funkce metaloproteázy ADAM12. Dalším cílem bylo určit zda metaloproteázy ADAM12, MT1-MMP a MT2-MMP mohou zprostředkovávat štěpení proEGF. Třetím cílem práce bylo purifikovat inhibitor TIMP-2 a použít purifikovaný TIMP-2 k inhibici aktivity ADAM12 a MT1-MMP.

Práce je přehledně členěna na předepsané části. Po podrobném a úplném seznamu zkratk následuje literární přehled. V literárním přehledu autorka čtenáře úvodem seznamuje se skupinou metaloproteáz, závislých na zinku z rodiny „metzincin“, a potom se podrobně zaměřuje na strukturu a funkci metaloproteáz ADAM12 a MT1-MMP. Po literárním přehledu jsou zařazeny stručné, jasně formulované cíle práce. V kapitole Materiál a metody jsou stručně ale přehledně a pečlivě popsány používané metody způsobem, umožňujícím použít uvedenou diplomovou práci i jako laboratorní manuál.

Kapitola Výsledky obsahuje popis klonování a exprese proteinu ADAM12 v jednotlivých expresních systémech, studium štěpení proEGF metaloproteázami ADAM12, MT1-MMP a MT2-MMP a konečně purifikaci TIMP-2 a testování funkce purifikovaného proteinu. Obrazová dokumentace výsledků je na velmi dobré úrovni.

Diskuse výsledků je zdařilá, svědčí o schopnosti autorky kriticky hodnotit nejen výsledky svých experimentů, ale i současné poznatky ve své oblasti výzkumu. Závěr přehledně shrnuje výsledky práce. Autorce se podařilo exprimovat formy zfADAM12 v různých expresních systémech a prokázat schopnost zfADAM12 (konkrétně formy bez cytoplasmatického konce) štěpit proEGF. Dále autorka ukázala, že ADAM12 je exprimován ve všech stádiích embryogeneze Zebrafish. V druhé části projektu autorka ukázala, že MT1-MMP i MT2-MMP jsou schopny štěpit proEGF. Autorce se podařilo i purifikovat z *E. coli* funkční inhibitor TIMP-2.

Ve své práci autorka využila velké množství metod molekulární a buněčné biologie. Prokázala schopnost provádět komplexní experimenty,

kriticky je hodnotit a výsledky uvádět do širších souvislostí. Práce je psána velmi dobrou angličtinou.

Práce podle mě jednoznačně splňuje a v mnohém převyšuje požadavky na diplomovou práci a navrhuji její přijetí.

K práci mám následující otázky:

Jaké konkrétní experimenty by autorka navrhla pro prokázání úlohy zebrafish ADAM12- Δ cyt v signalizaci přes receptor pro EGF?

Jaké experimenty by autorka navrhla pro prokázání hypotézy, že existuje pozitivní zpětnovazebný autokrinní mechanismus mezi EGF a MT1-MMP, ovlivňující remodelaci extracelulární matrix?

Podpis oponenta:

