

Posudek oponenta na bakalářskou práci

Ivy Zuskové

„Studium interakce C-konce DNA-vazebné domény FOXO4 s DNA“

Předložená bakalářská práce Ivy Zuskové se zabývá studiem interakce forkhead domény lidského transkripčního faktoru FOXO4 s DNA. Protein FOXO4 patří do podskupiny "O" forkhead transkripčních faktorů. Zástupci této podskupiny se podílejí na mnoha důležitých biologických procesech: účastní se kontroly metabolismu, buněčného cyklu, apoptózy a ochrany vůči oxidativnímu stresu. Studium dosud nejasné úlohy C-koncového ohybu W2 forkhead domény při vazbě FOXO na DNA může významně přispět k pochopení funkce této důležité bílkoviny.

Mezi hlavní cíle práce patřila příprava DNA-vazebné (tzv. forkhead) domény lidského forkhead transkripčního faktoru FOXO4 (sekvence 82-207) a určení zdánlivé disociační konstanty komplexů připravené DNA-vazebné domény FOXO4 a tří různých dvojvláknových DNA lišících se sekvencí.

K dosažení vytčených cílů musela Iva Zusková zvládnout metody exprese rekombinantních proteinů v bakteriích *E. coli*, následně pak metody purifikace, které zahrnovaly niklovou chelatační chromatografii, kationtově výměnnou chromatografii a gelovou permeační chromatografii. Vazbu FOXO4 na DNA sledovala pomocí změn stacionární anisotropie fluorescence. Ivě Zuskové se podařilo požadovaný protein připravit v dostatečném množství a čistotě a i následně změřit jeho vazebnou afinitu vůči fluorescenčně označeným dvojvláknovým DNA. Tato měření neukázala významné rozdíly ve vazebné afinitě vůči testovaným sekvencím DNA.

Bakalářská práce Ivy Zuskové je formálně i jazykově na dobré úrovni s dobrou proporcí mezi teoretickou a výsledkovou částí, kdy samotné výsledky a jejich diskuse zabírají přibližně čtvrtinu z celkového počtu 48 stran. Citované prameny jsou dostatečné a relevantní, citace jsou sjednocené. Práce je psána velmi pečlivě s minimem překlepů.

K práci mám následující komentáře a upřesňující dotazy:

1. Během purifikace DNA-vazebné domény FOXO4 jste měla problémy s proteolytickou degradací. Používala jste nějaké inhibitory proteas?
2. Jak si vysvětlujete nezměněnou vazebnou afinitu při použití tří rozdílných DNA s různým obsahem A-T párů?
3. Budete se této problematice věnovat i v rámci své diplomové práce? Jestli ano, jakým směrem se bude výzkum ubírat?

Závěrem mohu konstatovat, že předložená práce Ivy Zuskové je kvalitní a zcela splňuje požadavky kladené na bakalářskou práci. Studentka prokázala schopnost vědecky pracovat a prezentovat dosažené výsledky. Proto navrhuji tuto práci uznat jako práci bakalářskou a hodnotit známkou výborně.

V Praze dne 10.6. 2010

Ing. Jan Teisinger, CSc.
FGÚ AV ČR, v.v.i.