

Posudek školitele na bakalářskou práci Ivy Zuskové

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

Bakalářská práce Ivy Zuskové je součástí projektu zaměřeného na studium mechanismu regulace forkhead transkripčního faktoru FOXO4. Transkripční faktory FOXO hrají klíčovou roli v řadě biologicky významných dějů jako je např. regulace apoptosy, odpověď na oxidativní stres, regulace metabolismu atd. Přestože se jedná o velmi významnou skupinu transkripčních faktorů, přesný mechanismus jejich regulace je stále nejasný. Několik regulačních míst se nachází na C-koncovém segmentu DNA-vazebné domény FOXO4, který je také znám jako ohyb W2. Zdá se, že tento ohyb, i přes svou značnou flexibilitu, je důležitou součástí DNA-vazebného místa FOXO4. Na základě dostupných strukturních informací vznikla hypotéza, že interakce ohybu W2 s DNA by mohla záviset na obsahu A-T párů v oblasti předcházející hlavní vazebný motiv. Hlavním cílem bakalářské práce Ivy Zuskové bylo pokusit se tuto teorii otestovat.

Iva Zusková nejdříve úspěšně připravila DNA-vazebnou doménu lidského forkhead transkripčního faktoru. Následně změřila vazebnou afinitu tohoto proteinu vůči třem různým molekulám DNA, které se lišili obsahem A-T párů v oblasti předcházející hlavní vazebný motiv, pomocí změn stacionární anisotropie fluorescence. Získaná data naznačují, že vazebná afinita DNA-vazebné domény FOXO4 je pro všechny tři testované sekvence DNA přibližně stejná. Jedná se ale o první měření, která ještě bude nutné opakovat a potvrdit.

Iva Zusková se během práce na své bakalářské práci stala součástí naší laboratoře a na svém projektu pracovala se zájmem a trpělivostí. Osvojila si řadu metod proteinové biochemie a biofyzikální chemie (exprese a purifikace rekombinantních proteinů, SDS-PAGE, určení zdánlivé disociační konstanty pomocí změn stacionární anisotropie fluorescence). Ukázala, že dokáže pracovat pečlivě a samostatně.

Myslím si proto, že bakalářská práce Ivy Zuskové splňuje všechny požadavky kladené na bakalářskou práci a plně ji doporučuji přijmout k obhajobě.

V Praze dne 9.6. 2010

doc. RNDr. Tomáš Obšil, Ph.D.