

Posudek školitele

diplomová práce **Bc. Petr Daněk - The molecular mechanism of CSL protein participation in oxidative stress response in *Schizosaccharomyces pombe***

Petr Daněk přišel do naší laboratoře v roce 2013 po absolutoriu Bc. studia na Univerzitě Palackého v Olomouci. Oproti většině našich ostatních studentů tak měl na startu jistý hendikep v podobě kratší časové dotace na vypracování diplomové práce. Petr se však zvládl rychle seznámit s novým modelovým organismem i výzkumnou problematikou a odvedl velký kus práce a získal kvalitní a zajímavá data, která tvoří základ předkládaného spisu.

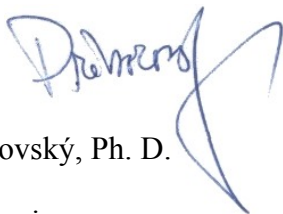
Ve své diplomové práci Petr rozpracoval náš pilotní nálezy zvýšené rezistence buněk *S. pombe* s delecí genu *cbf11* vůči peroxidu vodíku, chemikálii hojně využívané pro studium buněčné odpovědi na oxidativní stres. Petr se zaměřil na molekulární podstatu pozorované rezistence, přičemž částečně vycházel z fyziologických a genetických dat získaných v paralelně běžícím projektu jeho kolegyně Jarmily Tvarůžkové.

Petr se projevil jako aktivní, schopný a samostatný student a experimentátor. Osvojil si celou řadu základních i pokročilých metod molekulární biologie (např. RT-qPCR, chromatinová imunoprecipitace) a práce s mikrobiálními kulturami. Navíc v laboratoři zavedl metodu detekce redox stavu cysteinových zbytků v proteinech pomocí SDS-PAGE.

U vybraných genů odpovědi na oxidativní stres Petr zmapoval dynamiku jejich regulace u buněk divokého typu i buněk postrádajících transkripční faktory CSL a následně v celém panelu dvojitých mutantů zahrnujícím významné regulátory stresové odpovědi. Podařilo se mu zjistit, že transkripční faktor Cbf11 funguje jako nepřímý negativní regulátor genů stresové odpovědi a že konkrétní režim regulace se u jednotlivých sledovaných genů liší. To souvisí s dalším Petrovým nálezem, a sice že Cbf11 spolupracuje se dvěma dobře prozkoumanými signálními drahami odpovědi na oxidativní stres: redox-senzitivním transkripčním faktorem Pap1/AP-1 a stresovou MAP kinázou Sty1/p38. Součástí Petrových výsledků bylo i překvapivé zjištění, že Cbf11 negativně reguluje hladinu mRNA svého paralogu *cbf12*, což naznačuje možný mechanismus dříve popsáního funkčního antagonismu těchto dvou transkripčních faktorů. Petrovy prioritní nálezy se stanou součástí publikace v odborném časopise.

Výsledný spis diplomové práce je na velmi dobré formální úrovni, i když překlepů by mohlo být méně. Po obsahové stránce byly třeba jisté zásahy školitele do členění textu do kapitol a usměrnění stran interpretace získaných dat. Oceňuji Petrovo rozhodnutí sepsat práci v anglickém jazyce – považuji to za cenný trénink do budoucna, byť tím možná místy mírně utrpěla srozumitelnost textu. Dále musím výrazně vyzdvihnout velmi kvalitní a pečlivou obrazovou dokumentaci práce, včetně schémat ilustrujících kapitoly Diskuze.

V souhrnu diplomovou práci Petra Daňka plně doporučuji k obhajobě a navrhuji ohodnotit stupněm „výborně“.



RNDr. Martin Převorovský, Ph. D.
školitel

Katedra buněčné biologie
Přírodovědecká fakulta
Univerzita Karlova v Praze
Viničná 5, 128 43, Praha 2
prevorov@natur.cuni.cz
Tel.: +420 22195 1801