

## **Posudek vedoucího diplomové práce Renaty Slabé**

Ve své diplomové práci nazvané “Charakteristika stresových granulí u kvasinky *S.cerevisiae*“ Renata Slabá řešila tři samostatné projekty, jejichž propojujícím tématem bylo objasnění chování stresem indukovaných proteinových akumulací. Nejdříve se zapojila do projektu řešícího úlohu proteinu Mmi1, který je kvasinkovým ortologem savčího TCTP (translational controlled tumor protein). Připravila nové kmeny pro mikroskopickou analýzu chování tohoto proteinu a kolokalizovala jeho akumulace po robustním teplotním stresu s markery proteasomu a hlavního ER chaperonu Cdc48. Tato problematika je součástí našeho projektu zahraniční spolupráce s Prof. Breitenbachem z University v Salzburku a výsledky budou součástí připravované společné publikace. Dále se Renata zapojila do analýzy vztahu kvasinkového prionového proteinu Sup35 a jeho N-terminální domény k tvorbě teplotních granulí a zahájila přípravu konstruktů na prověření chování GFP fúze N-terminální domény proteinu Sup35 za stresu. Tyto výsledky jsou součástí připravované publikace naší laboratoře. V rámci svého třetího projektu se zabývala akumulací heterologního proteinu synucleinu a jejich interferencí s endocytickým aparátem. Konstrukty byly získány v rámci spolupráce od Dr. Tiago F.Outeiro z Portugalska s cílem využít našich kmenů k prověření vnitrobuněčných interferencí této proteinové akumulace s proteinem Sla2. Renata zjistila, že synuclein zřejmě brání tvorbě preautofagosomálního kompartmentu (PAS), který je charakterisován zejména akumulací proteinu Atg18.

Renata Slabá se velmi brzo zapracovala v potřebných laboratorních technikách molekulární buněčné biologie, které jsou v naší laboratoři běžně využívány. V průběhu experimentální práce si autorka osvojila řadu základních technik molekulární biologie a genetiky, počínaje izolací DNA z bakterií i kvasinek, přes PCR a klonovací techniky, transformaci bakteriálních a kvasinkových buněk až po analýzu exprese genů v bakteriálních a kvasinkových buňkách. Nezbytným předpokladem pro úspěšné splnění zadaného úkolu bylo také zvládnutí technik buněčné biologie včetně analýzy distribuce proteinů pomocí fluorescenční mikroskopie.

Dle mého názoru je diplomové práce Renaty Slabé dobře zpracovaná a obsahuje všechny formální náležitosti. Autorka porozuměla řešené problematice a prokázala schopnost samostatné experimentální a teoretické práce. Svým přístupem k práci se stala užitečným členem naší laboratoře a očekáváme, že bude problematikou proteinových akumulací a jejich odklizením v kvasinkách zabývat i nadále. Diplomovou práci doporučuji k obhajobě.

V Praze dne 20.9.2011

Ing. Jiří Hašek, CSc.