



UNIVERSITA KARLOVA V PRAZE
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
Katedra buněčné biologie

Ing. RNDr. Vladimír Krylov, Ph.D.
Viničná 7
128 44 Praha 2

tel: 420 2 21951773
fax: 420 2 21951758
e – mail: vkrylov@natur.cuni.cz

Školitelský posudek na diplomovou práci Andrei Mančíkové "Funkční studie alelických variant urátových transportérů SLC2A9 na modelu oocytů *Xenopus laevis*"

Andrea Mančíková svou diplomovou práci vypracovala na katedře Buněčné biologie v laboratoři vývojové biologie pod mým vedením. V roli konzultanta figurovala Dr. Blanka Stibůrková z Ústavu dědičných metabolických poruch 1. LF, která má k dispozici molekulárně biologická data unikátního souboru pacientů s poruchami membránového transportu kyseliny močové. Cílem diplomové práce byla funkční charakterizace nalezených alelických variant lidských urátových transportérů SLC2A9L a SLC2A9S s využitím expresního systému izolovaných oocytů *Xenopus laevis*.

Andrea se do řešení své diplomové práce pustila s obrovským nasazením a zapálením pro věc. Ve velmi krátké době se naučila připravovat jednotlivé alelické varianty pomocí GENEART Site-Directed Mutagenesis kitu. Zde bych rád podotknul, že práce s tímto kitem vyžaduje více než schopnost smíchat roztok ze zkumavky A s roztokem ze zkumavky B. V cca 40% případech se vyskytly komplikace v podobě neočekávaných nukleotidových záměn, inzercí či delecí, což od diplomantky vyžadovalo navrhnout vhodnější primery, optimalizovat reakční podmínky a celý proces zopakovat. Příslušné cRNA připravené pomocí *in vitro* transkripce pak byly mikroinjikovány do xenopích oocytů.

Vlastní funkční studie byly realizovány na základě porovnání míry uptake radioaktivního urátu mikroinjikovanými oocyty exprimujícími příslušné alelické varianty urátových transportérů. Andrea při těchto experimentech jasně prokázala, že je schopná si celý pokus naplánovat, provést a hlavně samostatně vyhodnotit a interpretovat. Na tomto místě bych rád podotkl, že na základě způsobu jejího uvažování a přístupu k práci bych neváhal Andreu označit spíše za studentku doktorského studia než za diplomantku. Jsem velice rád, že se Andrea bude této problematice věnovat i v rámci PhD studia. Na základě mého posudku hodnotím diplomovou práci stupněm výborně.

V Praze dne 22.8.2013

Ing. RNDr. Vladimír Krylov, Ph.D.