

## **Posudek školitele na diplomovou práci Anny Valentové: “Genetické interakce mutace *PRP45* v *Saccharomyces cerevisiae*”.**

Diplomová práce Anny Valentové je součástí dlouhodobého studia proteinu Prp45 *S. cerevisiae* v naší laboratoři. Přestože je tento protein orthologem savčího koregulátoru transkripce, SNW/SKIP, v pučící kvasince byl dosud popsán jako komponenta spliceosomu. Identifikovány byly jeho fyzické interakce s proteiny Prp46, Syf3 a Prp22. Funkční data, krom faktu, že je esenciálním spliceosomálním proteinem, dosud chybí. V naší laboratoři jsme připravili jeho vitální varianty s rozsáhlými C-koncovými delecemi.

S cílem, identifikovat další možné partnery, a dále tak rozšířit předivo interakcí, do kterých protein Prp45 vstupuje, zavedli jsme v laboratoři molekulárně genetickou techniku, umožňující detekovat mutace synteticky letální k deleční variantě Prp45. Metodu zavedl a první nálezy učinil a popsal Mgr. Gahura ve své diplomové práci. Anna Valentová dostala za úkol rozšířit kolekci mutantů a pokusit se o nalezení a identifikaci dalších mutací. Úkolu se ujala s vehemencí jí vlastní. Připravila hned dvě kolekce mutantů, a to v kmenech opačného párovacího typu. To jí umožnilo využít genetické triky k určení dominance/recesivity mutací a seskupení mutací do komplementačních skupin. Z literárních údajů a nálezů Ondřeje Gahury plynulo, že "partnerské" mutace lze očekávat mezi geny, jejichž proteinové produkty se angažují v druhém sestřihovém kroku. Rozhodli jsme se nejprve prověřit tuto možnost a obě kolekce mutant jsme nejprve testovali geny nesených plasmidy, které jsme získali darem. Učinili jsme tak i proto, že identifikace knihovnou je mnohonásobně pracnější. Ukázalo se, že tato strategie byla správná. Anna tímto způsobem našla osm mutací v celkem šesti sestřihových genech. Několik ze zbylých mutant pak testovala knihovnou a ve dvou případech byla úspěšná, když identifikovala dvě mutace, mutaci genu pro Ntc20, sestřihový faktor, který jsme neměli v kolekci plasmidů, a genu pro cofilin. Nález mutace genu pro cofilin má logiku, gen nese intron, a nabízí se tak zajímavé vysvětlení, že mutace v PRP45

ovlivňuje právě sestřih tohoto intronu. Největší přínos však spatřuji v identifikaci mutací v genu PRP22, kódujícím RNA helikázu esenciální pro druhý sestřihový krok. Výsledky popsané v této práci tvoří významnou část publikace Gahura et.al., která byla přijata do tisku v časopise Journal of Cellular Biochemistry.

Značné úsilí Anna věnovala i sepsání výsledků, literárnímu úvodu a diskuzi, jednak proto, že objem vygenerovaných dat byl ohromný, jednak proto, že text spisu se nerodil lehce. Anna se snažila zakomponovat a do detailu systematicky popsat veškeré experimenty a všechny získané výsledky. Prvopis byl proto svérázně upracovaný, navíc napsaný kostrbatým, jakoby archaickým jazykem. Přestože ve finálním textu lze nalézt řadu pozůstatků, ve výsledku je popis experimentální části odpovídající standardu, a snad i čtivý. Literární část je přehledně a důsledně zpracována. V diskuzi se autorka občas ocitá na hraně spekulace, ale i to lze přičíst nezkušenosti s psaním odborného textu.

Anna odvedla úctyhodné množství pečlivé a smysluplné práce, za niž ji patří plné absolutorium a můj dík. Práci doporučuji k přijetí.

V Praze, dne 20.9.2008

RNDr. František Půta, CSc.

