



Posudek školitelky na diplomovou práci Jaromíra Zahrádky

„Příprava a charakterizace plasmidu YEX-GFP-Nha1 a jeho využití pro studium proteinu Nha1 ze *Saccharomyces cerevisiae*“

Student Jaromír Zahrádka, narozený 11.5.1984, byl přijat do Oddělení membránového transportu Fyziologického ústavu AV ČR, v.v.i. jako diplomant na podzim 2006, od ledna 2007 je zaměstnán na částečný úvazek jako studentská pomocná vědecká síla. V souladu se zaměřením naší pracovní skupiny se J. Zahrádka začal zabývat studiem biogeneze a degradace jednoho z transportních systémů pro kationy alkalických kovů plasmatické membrány kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Jeho úkolem bylo 1) konstruovat chimerní antiporter Nha1 značený na svém N-konci GFP a porovnat aktivitu a lokalizaci tohoto proteinu s chiméřním Nha1p značeným GFP na C-konci, a 2) připravit mutantní kmen kmene BY4741 s delecí genu *NHA1*.

V předkládané diplomové práci jsou shrnuty výsledky konstrukce plasmidů umožňujících v buňkách expresi GFP-značeného antiporteru, oprava chyb v čtecím rámci genu cílenou metagenesí, charakterizace fenotypu buněk souvisejícího s různými použitými expresními vektory, měření transportní aktivity chiméřních i neznačených proteinů Nha1 a jejich lokalizace v buňce. Výsledky popsané v předkládané práci budou využity při dalším řešení grantových projektů, při navazujícím doktorském studiu a předpokládáme i jejich publikaci.

J. Zahrádka během velmi krátké doby zvládl celou řadu nejen biochemických metod ale i metod molekulární biologie a genetiky (konstrukce a izolace plasmidů, jejich analýza, cílená metagenese, delece genu v chromosomu a její ověření, transformace prokaryotních i eukaryotních buněk atd).

Závěrem bych ráda uvedla, že Jaromír Zahrádka projevil ve značné míře badatelského ducha, pracoval velmi samostatně a nezávisle, prokázal velkou systematičnost, schopnost logického uvažování a tvůrčí přístup k experimentální práci, a jeho předkládaná diplomová práce si jistě zaslouží vysoké hodnocení.

V Praze, 2.května 2008

RNDr. Hana Sychrová, DrSc.

Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i.