

Oponentský posudek na diplomovou práci

Jméno oponenta: doc. RNDr. Jan Brábek, PhD.

Datum: 23. 8. 2016

Autor: Bc. Tomáš Lid'ák

Název práce: **Charakterizace mechanismů jaderného transportu proteinu 53BP1**

Cílem hodnocené práce bylo identifikovat jaderný lokalizační signál proteinu 53BP1, a to s využitím metod bioinformatiky, fluorescenční mikroskopie a imunoprecipitace. Dalším cílem diplomové práce bylo analyzovat vliv posttranslačních modifikací a zejména fosforylace serinu 1678 na transport proteinu 53BP1 do jádra.

Práce je přehledně členěna na předepsané části. Po podrobném a úplném seznamu zkratk, stručném úvodu do problematiky a přehledu cílů práce následuje literární přehled. V literárním přehledu autor čtenáře úvodem seznamuje s odpovědí buněk na dvouřetězcové zlomy DNA. Následuje kapitola o proteinu 53BP1, zahrnující úlohu tohoto proteinu v odpovědi buněk na dvouřetězcové zlomy, a roli 53BP1 při imunodeficienci a nádorech. Třetí kapitola se zabývá jaderným transportem a regulací jaderného importu. Přehled je čtivý a je z něj patrné, že se autor seznámil velmi důkladně s relevantní literaturou. V kapitole Metody jsou na 20 stranách přehledně a pečlivě popsány používané metody způsobem, umožňujícím použít uvedenou diplomovou práci jako manuál pro provádění uvedených experimentů.

Kapitola Výsledky začíná popisem identifikace jaderného lokalizačního signálu proteinu 53BP1. Následuje analýza vlivu fosforylace serinu 1678 na transport proteinu 53BP1 do jádra. Poslední část výsledků popisuje možný vliv acetylace na regulaci jaderného transport proteinu 53BP1.

Diskuse výsledků je velmi zdařilá, svědčí o schopnosti autora kriticky hodnotit nejen výsledky svých experimentů, ale i současné poznatky ve své oblasti výzkumu.

Závěry přehledně shrnují výsledky práce. Autorovi se podařilo ukázat, že protein 53BP1 váže importin β prostřednictvím svých dvou úseků bohatých na bazické aminokyseliny (1667-KRK-1669 a 1681-KRGRK-1685). Tyto úseky byly rovněž nutné pro jeho vstup do jádra. Krátký polypeptid zahrnující tyto dva úseky vázal importin β a umožnil transport GFP do jádra.

Dále se autorovi podařilo zjistit, že mutanta 53BP1-S1678D, která mimikuje fosforylovaný serin na pozici 1678, měla výrazně sníženou schopnost vázat importin β a byla hůře transportována do jádra. Nicméně žádné změny v

transportu proteinu 53BP1 do jádra nebyly pozorovány, a tak se zdá, že fosforylace serinu 1678 cyklin-dependentními kinázami nebude významně regulovat jeho transport. Výsledky předložené v této práci do budoucna výrazně usnadní předpověď vlivů dalších popsanych posttranslančních modifikací a nádorových mutací na transport proteinu 53BP1 do jádra.

Ve své práci autor využil velké množství metod molekulární a buněčné biologie. Prokázal schopnost provádět komplexní experimenty, kriticky je hodnotit a výsledky uvádět do širších souvislostí. **Práce podle mě jednoznačně splňuje požadavky na diplomovou práci a navrhuji její přijetí.**

Práce je psána dobrou angličtinou, po formální stránce ji považuji za velmi zdařilou a nemám k ní žádné formální připomínky.

Mám následující otázku:

Ke kterému z v Diskusi navrhovaných zdůvodnění diskrepance v chování mezi EGFP-53BP1-S1678D and EGFP-53BP1-wt při vazbě importinu β v M fázi se autor přiklání?

Podpis oponenta:



Jan Brábek