

## **Posudek diplomové práce Bc. Pavly Novotné s názvem „Studium kvasinkového kmene BR-S s delecí genu *SIR2*“**

Diplomová práce navazuje na výsledky, které byly získány v předchozích studiích, a které potvrzují, že histon deacetyláza Sir2p může hrát roli v umlčování genů při domestikaci kvasinek. Diplomantka pracovala s mutantním kmenem *Saccharomyces cerevisiae* BR-S, u kterého byl deletován gen pro *SIR2*, a jehož předběžná charakterizace ukázala jeho pozměněnou morfologii. V této práci byla provedena detailní studie změn morfologie tohoto mutovaného kmene a výsledky byly porovnávány s morfologiemi divokého typu *S. cerevisiae* BR-S a BR-F. Kromě změn v morfologii se diplomantka zabývala také změnami proteinů v extracelulárním matrixu a jejich glykosylaci. Pro následné studium připravila kmen BR-S s delecí genu *SIR2*, obsahující GFP a inducibilní promotor.

Práce obsahuje na 15 stránkách kvalitně zpracovaný literární přehled, který dostatečně do hloubky i do šířky popisuje studovanou problematiku. Je řádně doplněn citacemi.

Použité metody jsou shrnuty na 15 stránkách a jsou popsány dostatečně podrobně. Jejich členění by mohlo být uspořádáno více logicky, např. extrakce extracelulárních proteinů z kolonií je popsána v kapitole 4.2.7., ale součástí izolace těchto proteinů je jejich srážení methanolem a chloroformem, a to je popsáno až v kapitole 4.2.14.

Experimenty ve výsledkové části jsou velmi pečlivě provedeny a každá kapitola obsahuje odstavce cíl, postup a výsledky. Součástí výsledkové části je řada obrázků, které velmi dobře dokumentují získaná data. Odkazy na obrázky jsou též vhodně uvedeny v textu. K této kapitole, která obsahuje 43 stránek, nemám žádné zásadní připomínky.

V diskusi jsou uvedeny souvislosti mezi použitým přístupem a podmínkami experimentů a tím, co je již známo. Diskuse také dobře uvádí naměřená data do obecnějších souvislostí a shrnuje význam získaných dat.

Práce je napsána dobrým stylem, je přehledná, obrázky jsou kvalitní, a nemám k ní žádné zásadní připomínky, ale pouze následující dotazy:

1. V literárním přehledu je uvedeno, že lysinové zbytky K106, K132 a K215 jsou u Sir2 deacetylázy sumoylovány. Je známo také něco o ubikvitinaci Sir2 nebo dalších typů deacetyláz u kvasinek?
2. Ke srážení proteinů z extracelulárního matrixu jste použila methanol-chloroformové metody. Netestovala jste i další metody pro srovnání účinnosti izolace těchto proteinů?

3. Glykosylaci proteinů z extracelulárního matrixu jste ověřovala pomocí barvení concavalinem A. Testovala jste i fluorescenční barvy pro detekci glykosylace a deglykosylaci izolovaných proteinů?

Závěrem bych chtěla konstatovat, že Bc. Pavla Novotná předložila kvalitní diplomovou práci, a proto ji doporučuji přijmout k obhajobě.

V Praze dne 7.9. 2016

Ing. Iva Pichová, CSc.