

## Školitelský posudek na diplomovou práci

Jméno školitele: Doc. RNDr. **Daniel Rösel**, PhD.

Autor diplomové práce: Bc. **Michal Dibus**

Název práce: **Propojení signalizace PKN3 a p130Cas/BCAR1**

---

Cílem diplomové práce Michala Dibuse bylo potvrdit, že kináza PKN3, kterou jsme identifikovali v přímé interakci s proteinem p130CAS, tento protein i fosforyluje a dále analyzovat jak tato případná fosforylace ovlivňuje signalizaci závislou na p130CAS.

Michal se zadání práce zhostil s invencí a elánem. Připravil sérii mutant oblasti p130CAS, kterou jsme predikovali jako nejpravděpodobnější cíle fosforylace PKN3. S pomocí těchto mutant a MS analýzy se mu pak podařilo nejenom potvrdit, že PKN3 fosforyluje p130CAS, ale i identifikovat příslušné aminokyselinové zbytky, na kterých k fosforylaci dochází. Následně potvrdil, že 4-OHT indukuje fosforylaci p130CAS a jeho interakci s 14-3-3ζ. Bohužel jeho další výsledky však ukázaly, že PKN3 nejspíše není za tuto fosforylaci zodpovědná.

Michalovu experimentální zručnost hodnotím jako výbornou, vysoce hodnotím i jeho práci s textem. V rámci své práce Michal zavedl v laboratoři metodiku analýzy fosforylačních paternů proteinů pomocí upravené SDS PAGE nebo zrychlenou přípravu gradientových gelů. Navíc vyjma výsledků prezentovaných v diplomové práci připravil a úspěšně otestoval mutantní PKN3, která je schopná využívat jako substrátu objemné analogy ATP a která by nám měla následně umožnit identifikovat dosud neznámé substráty PKN3. Zavedl též produkci proteinů v bakulovirovém hmyzím expresním systému.

**Práce podle mě jednoznačně splňuje požadavky na diplomovou práci a navrhuji její přijetí.**

V Praze, 25.5.2016

Podpis školitele:

Doc. RNDr. Daniel Rösel, PhD.