

Posudek školitele na diplomovou práci Bc. Zuzany Cihlářové

Zuzana Cihlářová je bezesporu vynikající studentkou. Magisterské studium absolvovala s prospěchem 1.0, stejně tak jako bakalářské státní zkoušky a ústní část magisterské státní zkoušky. Jistý perfekcionalismus ji však nutí věnovat učení a zejména zkouškám více času, než je obvyklé a snad i potřebné.

Diplomová práce zahrnuje řešení dvou vzájemně nepříliš souvisejících cílů. Prvním cílem byla analýza role intronů v regulaci exprese paralogních genů *TUB1* a *TUB3*, a její ovlivnění mutací v sestřihovém faktoru Prp45. Druhým cílem pak byla pilotní stanovení úlohy proteinu Prp45 v regulaci stavu chromatinu.

Během přípravy diplomové práce autorka zvládla a aplikovala obsáhlou sbírku metod mikrobiologických, stejně tak jako metod genového inženýrství a molekulárně genetických analýz, včetně metod velmi pokročilých, jako je analýza chromatinovou imunoprecipitací.

Autorka při řešení prvního cíle zjistila, že exprese genů *TUB1* a *TUB3* není na přítomnosti intronů závislá, a že se mutace v proteinu Prp45 na jejich sestřihu negativně neodráží. Pro řešení druhého cíle mj. připravila kvasinkové kmeny s delecí proteázy štěpící alfa faktor a využila ji k účinnému zablokování buněčného cyklu. Současně se v laboratoři podílela na zavedení systém β -estradiolem indukované exprese myc-tag značeného histonu H3. Kombinací obou technik a za pomoci chromatinové imunoprecipitace stanovila inkorporaci takto značeného histonu do nukleosomů. Získané výsledky jsou přes několikrát opakování zatíženy velkým rozptylem hodnot a zřejmě malým odstupem signálu od pozadí. Nelze tedy uzavřít, zda pod vlivem mutace *prp45(1-169)* došlo či nedošlo ke zvýšení dynamiky nukleosomů v genech, které obsahují intron, jakkoli by se tak při optimistickém náhledu na ně mohlo jevit. Abychom mohli definitivně rozhodnout, bylo by třeba zejména zjistit, jaký odstup má získaný signál od pozadí, resp. nakolik jsou fluktuační signálu náhodné. Při řešení tohoto cíle Zuzana Cihlářová ale zaznamenala, že mutantní buňky akumulují více značeného histonu H3. Tento poslední výsledek je založen jen na jednom pozorování a bylo by třeba experiment zopakovat. Pokud by se výsledky potvrdily, v zásadě by Zuzana Cihlářová získala kýžený Nález. K tomu už však chyběl čas.

Čas potřebný k opakování experimentu autorka „ztratila“ dílem na stáži v Dánsku na katedře molekulární biologie a genetiky, fakulty vědy a technologie, university v Aarhusu, kde pobývala v rámci projektu Erasmus v zimním semestru 2016/17. Jakkoliv je mi líto, že v důsledku přerušení práce zde, na dokončení diplomové práce zbývalo času málo, mohla být lepší a výsledky validní, musím konstatovat, že stáž Zuzce bezesporu prospěla, a to jak experimentálně, tak motivačně, a domnívám se, že i osobnostně. Hodnocení pobytu v laboratoři ze strany hostitelky Dr. Lotte Bjergbaek lze shrnout jako vynikající. Zuzana na stáži kromě metodických dovedností a zkušeností pobrała sebevědomí a motivaci pro další bádání. Rozdíl zejména v jejím nasazení před a po stáži byl markantní.

Diplomovou práci sepsala Zuzana Cihlářová vcelku samostatně. Po formální stránce je spis v podstatě dokonalý. Čeština je na velmi dobré úrovni a text je téměř bez chyb. Zde se projevil smysl autorky pro detail a dokonalost. Moje zásahy do textu měly spíše charakter argumentační než stylistický či jazykový.

Své hodnocení uzavírám konstatováním, že Zuzana Cihlářová bezesporu splnila to, co se od diplomové práce očekává, tj. naučila se a prakticky aplikovala řadu technik, čímž ukázala, že je schopna v laboratoři samostatně pracovat. Postupně se učila výsledky své experimentální práce hodnotit a navrhopvat řešení. Její nasazení se pohybovalo po trvale vzestupné trajektorii. K dobru je jí třeba přičíst i skutečnost, že se v průběhu studia a přípravy diplomové práce musela vyrovnat s nevratným poškozením sluchu a s tím spojenými velmi nepříjemnými stavy, které jí periodicky postihují.

Práci doporučuji k přijetí.

Na Patejdlovce, dne 5.6. 2017

Doc. RNDr. František Půta, CSc.