

Posudek školitele

Mgr. Kamila Cajthamlová vypracovala doktorskou disertační práci na téma „Restričně-modifikační enzymy Typu I – identifikace pomocí dvourozměrné elektroforézy a studium fosforylace podjednotek Hsd“ v Laboratoři bakteriální genetiky MBÚ AV ČR. Jsem si vědoma, že byla postavena před nelehký úkol, totiž vypracovat a zavést metody dosud na našem pracovišti nepoužívané. Kromě osvojení si řady laboratorních technik nezbytných pro analýzu základních funkcí restričně-modifikačních (R-M) enzymů Typu I *in vivo*, což představuje celou škálu mikrobiálních metod od kultivačních technik bakterií, přípravu lyzátů bakteriofága lambda, přes metody molekulární biologie jako je práce s plazmidovou DNA a její zavedení do vhodných bakteriálních kmenů, až po imunodetekci exprimovaných Hsd podjednotek, poradila si Mgr. Cajthamlová i s dvourozměrnou elektroforézou Hsd podjednotek, analýzou fosforylace *in vivo* i *in vitro* a s chromatografickými technikami.

Díky tomu dosáhla Mgr. Cajthamlová prioritních vědeckých výsledků v oblasti regulace R-M enzymů Typu I. Poprvé se podařila separace jednotlivých Hsd podjednotek dvourozměrnou elektroforézou u enzymů EcoKI a EcoR124I a to metodou NEPHGE použitou vzhledem k velmi rozdílným hodnotám pI Hsd podjednotek, zejména u enzymu EcoKI. Nehomogenní skvrny pozorované touto metodou pak logicky vedly k úvaze o fosforylací způsobené heterogenitě rozdělených proteinů. Analýza fosforylace byla provedena u představitelů tří skupin R-M enzymů Typu I EcoKI (Typ IA), EcoAI (Typ IB) a EcoR124I (Typ IC), které se přes svoji příbuznost významně liší v regulaci funkce i lokalizaci enzymů v bakteriální buňce. Fosforylace nalezená u podjednotky HsdR a to pouze v případě exprese komplexního enzymu EcoKI je zajímavým potvrzením těchto odlišností (viz publikovaná práce).

Svémi výsledky přispěla Mgr. Cajthamlová výrazně k pochopení regulace funkce těchto komplexních R-M enzymů.

V Praze dne 14. 9. 2007

RNDr. Marie Weiserová, CSc.