

POSUDEK ŠKOLITELE NA DIPLOMOVOU PRÁCI

Název práce: Chromatinová imunoprecipitace vybraných transkripčních faktorů

Autor práce: Bc. Jitka Smetanová

Školitel: Mgr. Karel Vališ, Ph.D.

Jitka ve své diplomové práci (DP) navázala na svoji práci bakalářskou, kterou vypracovávala taktéž v naší laboratoři. Obě práce spojuje společné téma studia jednotlivých aspektů Hippo signální dráhy v T-ALL buňkách. Některé výsledky týkající se vztahu mezi klíčovou kinázou Hippo signální dráhy (MST1) a aktivitou kaspáz, které Jitka získala během své bakalářské práce, tvoří podklady pro společnou publikaci, která bude v blízké době odeslána do některého z recenzovaných časopisů a Jitka je jedním ze spoluautorů.

Ve své DP se Jitka dále soustředila na studium TEAD1 transkripčního faktoru (TF), který je členem skupiny TEAD TF představující klíčové TF v Hippo signální dráze a recentně byla popsána důležitá úloha této signální dráhy v životě imunitních buněk. Přehled recentních výsledků týkajících se úlohy Hippo signální dráhy v imunitních buňkách Jitka zpracovala v úvodu své DP. Jitka se konkrétně zaměřila na úlohu TEAD1 TF v regulaci exprese zásadních metabolických regulátorů T buněk, C-MYC a GLUT1. Hlavním cílem její DP bylo potvrdit přítomnost TEAD1 v promotorech výše zmíněných genů pomocí techniky chromatinové imunoprecipitace (ChIP). DNA získaná během TEAD1 ChIP měla být dále použita pro konstrukci DNA knihovny umožňující následnou NGC analýzu (ChIP-Seq) a proteiny získané během ChIP analýzy měly být použity pro jejich hmotnostně-spektrometrickou (MS) identifikaci. Bohužel, problémy spojeny zejména s nízkou kvalitou enzymů dodaných firmami pro ChIP analýzu vedly ke zdržení během ChIP analýzy, tudíž NGS a MS analýzy nebylo možno během Jitčina studia provést (další faktor přitom sehrávají také delší čekací lhůty na strojový čas instrumentů esenciálních pro výše zmíněné metody a následná bioinformatická analýza).

Jitce se nakonec zejména díky častému pobytu v laboratoři podařilo vyřešit problémy spojené s nekvalitními enzymy a získala kvalitní chromatin vhodný pro ChIP analýzu. Z hlediska komplikovanosti ChIP analýzy se však příprava kvalitního chromatinu neobešla bez pomoci školitele. Jitce se ve finále podařilo pomocí ChIP analýzy prokázat přítomnost TEAD1 TF v promotorech genů *C-MYC* a *GLUT1* a tyto zjištění otevírají zcela nový pohled na regulaci těchto klíčových genů u T-ALL buněk a pravděpodobně i u některých skupin zdravých imunitních buněk. Jitka přistupovala k řešení tématu po celou dobu studia zodpovědně a získaných výsledků dosáhla zejména díky intenzivní práci v laboratoři. Během práce v laboratoři si Jitka také osvojila řadu molekulárně-biologických technik. Mezi její slabší stránky patří samostatná práce s literaturou a následná dedukce konkrétního řešení vzniklých problémů.

Z těchto důvodů doporučuji práci k obhajobě a navrhuji výsledné hodnocení **velmi dobře**.