

Posudek školitele na diplomovou práci Libuše Kovařové
Vztah mezi sestřihem a stavem chromatinu v *Saccharomyces cerevisiae* – role proteinu Prp45

Libuša Kovařová nastoupila do naší laboratoře již v rámci bakalářského studia programu Biochemie, v jehož rámci vypracovala a obhájila bakalářskou práci. V laboratoři pokračovala i v navazujícím magisterském studiu oboru Buněčná a vývojová biologie. Téma diplomového projektu tak přímo navazuje na téma bakalářské práce, kde Libuša získala první výsledky chromatinových imunoprecipitací, ale omezený rozsah pokusů nedovolil dospět k definitivním odpovědím.

Projekt se týká proteinu Prp45, který patří mezi sestřihové faktory izolované původně v rámci komplexu označovaného jako NTR (Nineteen (complex) Related). Tak jako celý “Nineteen complex” a s ním související faktory, vykazuje i Prp45 vlastnosti, které svědčí o tom, že by mohl sloužit jako regulátor spřahující transkripci a sestřih. Vztah mezi transkripcí a sestřihem je u *S. cerevisiae*, tak jako u Metazoi, obousměrný, míra spřažení, jak po fyzické tak regulační stránce, je však daleko méně komplexní a umožňuje ptát se na dílčí souvislosti a studovat je nezávisle. Ukázali jsme, že mutace *prp45(1-169)* negativně ovlivňuje časnou fázi sestavování spliceosomu. Prp45 rovněž geneticky interaguje s faktory důležitými pro elongaci transkripce, mimo jiné i s histon-acetyltransferasou Gcn5 a s enzymy katalyzujícími ubiquitinylaci H2B. Položili jsme si proto otázku, zda Prp45 reguluje sestavování spliceosomu prostřednictvím změn v chromatinových modifikacích s dopadem na dynamiku nukleosomů. Na vedení práce se podílela Mgr. M. Hálová, která je i autorkou některých výše zmíněných nálezů.

Práce, která je předkládána, zahrnuje výsledky chromatinových imunoprecipitací a přípravy kmenů a konstruktů, které měly být základem pro další pokusy. Musím bohužel konstatovat, že se nám nepodařilo dospět dále než jenom ke splnění základních cílů (a daleko méně definitivním odpovědím než jsme původně předpokládali).

Libuša se projektu věnovala zodpovědně, zodpovědnost a pečlivost je to, za co bych ji mohl pochválit. Rezervy byly co se týče samostatného uvažování o problémech a co se týče uvažování o pokusech vůbec. Vytknul bych jí příliš málo zájmu dozvědět se něco o biologii těch procesů, které měla studovat.

Práci doporučuji k obhajobě, protože se domnívám, že uchazečka dokázala realizovat pokusy s využitím různých metodik a jejich výsledky shrnout formou, která prokazuje rámcové zvládnutí odborné problematiky.

V Praze dne 15. 9. 2018
Petr Folk