

Oponentský posudek

Na diplomovou práci Bc. Elišky Nedbákové, nazvanou:

„Řípaava komplexů 14-3-3 proteinu a tryptofánových mutantů regulační domény tyrozin hydroxylázy.“

Proces regulace v živých organismech je v posledních letech středem pozornosti řady výzkumných laboratoří nejen biologických a biochemických, ale i biofyzikálně chemických. Studium je zaměřeno zejména na objevení molekulárního mechanismu regulace důležitých životních pochodů. V tomto směru jsou jako jedny z významných regulačních bílkovin studovány tzv. 14-3-3 proteiny. Ty se zúčastní řady významných biologických dějů, jako je např. programovaná buněčná smrt, regulace syntézy neurohormonů nebo kontrola buněčného cyklu. Proteiny 14-3-3 mají schopnost vázat fosforylované proteiny a peptidy a tím ovlivňovat jejich aktivitu. Jedním z těchto vazebných partnerů je i enzym tyrozin hydroxyláza, jejíž disfunkce může vést k řadě nepříznivých neurologických stavů. Z tohoto důvodu každý pokrok ve studiu interakce 14-3-3 proteinů a tyrozin hydroxylázy je důležitý z hlediska vývoje léčby takových onemocnění, jako jsou deprese, Parkinsonova choroba aj. Považuji proto výběr tematu diplomové práce E. Nedbákové za velmi aktuální.

Autorka diplomové práce měla za úkol metodami molekulární biologie připravit serii mutantů regulační domény tyrozin hydroxylázy, obsahujících pouze jeden tryptofánový zbytek na předem vybraných místech. Dále měla za úkol provést expresi a purifikaci monomerní a dimerní varianty 14-3-3 proteinu. V závěru práce pak byl proveden pozitivní test vazebné interakce 14-3-3 proteinu a regulační domény tyrozin hydroxylázy. Všechny tyto úkoly autorka diplomové práce úspěšně splnila.

Diplomová práce E. Nedbákové je napsána srozumitelně, má logickou stavbu a její grafická úprava je odpovídající. Pro řešení svého úkolu musela autorka zvládnout celou řadu experimentálních technik, což v této oblasti studia není zdaleka úkol zanedbatelný. Výsledky studia, které diplomová práce E. Nedbákové přináší, jsou nezbytným stupněm k dalšímu studiu interakce 14-3-3 proteinu s vazebnými partnery, které již bude probíhat pomocí metod např. spektrálních.

Některé problémy, které mi nebyly v diplomové práci zcela jasné, jsem s autorkou prodiskutoval osobně. Rovněž jsem ji upozornil na některé chyby formálního rázu. Jednalo se zejména o terminologickou nedůslednost, neúplné označení obrázků, laboratorní hantýrku a způsob citací vědeckých časopisů.

Závěrem konstatuji:

Diplomová práce Bc. Elišky Nedbákové je velmi cennou studií v oblasti výzkumu interakce 14-3-3 proteinů s tyrosyl hydroxylázou. Autorka ukázala, že je schopna vědecké práce v tak náročné oblasti, jako je příprava a analýza speciálních bílkovin.

Jelikož diplomová práce E. Nedbákové podle mého názoru vyhovuje požadavkům, kladeným na práce diplomové, doporučuji ji k dalšímu řízení.

Praha , 18.5. 2006.

Prof. RNDr. Zdeněk Pavlíček, Dr Sc.