

**Posudek školitele na bakalářskou práci Terezy Šafránkové  
„Cílená mutagenese fosforylačních míst Forkhead transkripčního  
faktoru FoxO4“**

Bakalářská práce Terezy Šafránkové je součástí projektu zaměřeného na studium interakce fokhead transkripčního faktoru FoxO4 s regulačním proteinem 14-3-3. Transkripční faktory FoxO hrají klíčovou roli v řadě biologicky významných dějů jako je např. regulace apoptosy, odpověď na oxidativní stres, regulace metabolismu atd. Přestože se jedná o velmi významnou skupinu transkripčních faktorů, přesný mechanismus jejich regulace je stále nejasný. Transkripční aktivita FoxO faktorů je řízena skrze fosforylaci proteinkinasou B. Tato fosforylace má za následek inhibici vazby DNA, vazbu regulačního 14-3-3 proteinu a rychlý export komplexu z jádra do cytoplasmy. Výsledky získané v posledních letech naznačují, že je to právě interakce se 14-3-3 proteinem co způsobuje totální inhibici vazby DNA a inhibici importu FoxO faktorů zpět do jádra. Jedním z hlavních cílů našeho výzkumu je objasnit molekulární mechanismus těchto dějů.

Hlavním cílem bakalářské práce Terezy Šafránkové bylo pomocí cílené mutagenese metodou PCR připravit 2 mutantní formy fokhead transkripčního faktoru FoxO4 obsahující pouze jedno fosforylační místo pro PKB. Po úspěšném zvládnutí této části projektu Tereza Šafránková ověřila pomocí expresního testu a SDS-PAGE elektroforézy expresi FoxO4 s mutací Ser193Ala v bakteriích *E. coli*.

Bakalářská práce Terezy Šafránkové představuje významný pokrok v naší práci na mechanismu regulace funkce fokhead transkripčního faktoru FoxO4. Připravené mutanty se již používají pro studium vlivu vazby 14-3-3 proteinu na konformaci DNA-vazebné domény FoxO4 pomocí dynamických fluorescenčních měření.

Tereza Šafránková se během práce na své bakalářské práci stala nedílnou součástí naší laboratoře a na svém projektu pracovala s velkým zájmem a trpělivostí. Rychle a dokonale zvládla celé spektrum metod molekulární biologie a proteinové biochemie (práce s plasmidovou DNA, cílená mutagenese, exprese proteinů, SDS-PAGE). Ukázala, že dokáže pracovat velmi pečlivě a samostatně.

Myslím si proto, že bakalářská práce Terezy Šafránkové splňuje všechny požadavky kladené na bakalářskou práci a plně ji doporučuji přijmout k obhajobě.

V Praze dne 12.9. 2006



RNDr. Tomáš Obšil PhD.