



David Doležel  
Biology Center AS CR  
Institute of Entomology  
and  
University of South Bohemia  
Faculty of Science  
Braníšovská 31  
370 05 České Budějovice  
CZECH REPUBLIC



**Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci Petry Houfkové:  
“Identification of interacting partners of Discs  
overgrown *in vivo*”**

Magisterská práce Petry Houfkové je napsána čtivě srozumitelně a přehledně. Vlastní práce je napsána na 59 stranách a skládá se z anotace, poděkování, úvodu, části materiál, metody, vlastních výsledků, diskuze, shrnutí a seznamu použité literatury. Text je doplněn dostatečným množstvím obrázků jak v úvodu tak ve vlastní experimentální části. Překlepů je přiměřeně a práce je napsána dobrou a srozumitelnou angličtinou. Toto dílo obsahuje všechny formální náležitosti kladené na magisterskou diplomovou práci.

Po metodické stránce je práce velmi bohatá a časově i manuálně náročná (výroba konstruktů, získání transgenických linií, genetická práce s octomilkami, práce s proteiny). Velice tedy oceňuji široké spektrum metod molekulární biologie, které autorka v průběhu řešení svého projektu úspěšně zvládla a použila.

Mám následující naivní dotazy:

1. Byla použita kompletní kódující sekvence *dco*?
2. Proč jste vybrali přilepení za C konec? Zvažovali jste použití “taggu” na N konec studovaného proteinu?
3. Máte vysvětlení proč jste nezískali dostatečné množství materiálu po druhém vymývání? (souvisí to s *dco*?, TAP?, použitým organismem?)
4. Popište prosím alternativní metody purifikace, u kterých předpokládáte, že by mohli fungovat lépe (např. Bürckstümmer et al., 2006) a případně vysvětlíte proč (pokud se to ví)
5. Jaký další postup v této tématice zamýšlíte (genetický test nalezených kandidátů?, jiné postupy purifikace?)

Jsem přesvědčen, že předložená práce Petry Houfkové splňuje veškeré požadavky kladené na magisterskou práci a doporučuji ji k obhajobě.

V Českých Budějovicích dne 26.1.2009

David Doležel

## 1. Obecné informace

Diplomová práce „Identification of interacting partners of Disc overgrown in vivo“ má rozsah 59 stran a je doplněna přiměřeným množstvím obrázků a tabulek. Rozsah práce je formálně v pořádku a splňuje požadavky Jihočeské univerzity.

Předložená práce Petry Houfkové si klade za cíl identifikovat vazebné partnery kinázy Disc overgrown u octomilky pomocí metodiky tandemové afinitní purifikace a následné hmotnostní spektroskopie (MS). Úvodem je třeba říct, že cíle předložené práce jsou velice ambiciózní a zahrnují široké spektrum metod – od práce s rekombinantní DNA, genetických modifikací octomilek, metod proteinové chemie (Western blotting a další) a analýzu pomocí MS. Kdybych hodnotil podobný návrh v rámci grantové aplikace, zajisté bych ho nazval jako objem práce, který je pro jednoho diplomanta nerealistický. Proto je mi potěšením vidět, že se většina cílů práce zdařila.

Práce je psána dobrou a srozumitelnou angličtinou bez překlepů.

## 2. Otázky a komentáře

a) Autorka by ráda využila své práce pro identifikaci kandidátních proteinů, které se v součinnosti s CK1e účastní rozvoje rakoviny prsu. Podle obrázku 1.1 a textu k němu příslušejícímu je hlavním důvodem pro studium Disc overgrown analogie mezi Dco mutacemi u octomilky a mutacemi, které byly asociovány s nádory prsu. Nicméně, podle obrázku 1.1 nejde u mutace Dco3 o úplně identické aminokyseliny jako u mutací CK1e z nádorů. Mohla by autorka tento fakt blíže vysvětlit?

b) Část práce spojená s přípravou vhodných kmenů octomilek proběhla bez problémů, zatímco vlastní afinitní purifikace neprobíhala optimálně. Jak sama autorka píše – „Efficiency of the first purification step is low“ a „Efficiency of the second purification is insufficient“, takže je vlastně malý zázrak, že bylo možno přejít i ke kapitole „Identification of the purified proteins“. Jakým způsobem by měla dále probíhat optimalizace TAP?

c) V části výsledky (tabulka 3.2. a 3.3.) jsou jako kandidátní vazebné proteiny uvedené proteiny z octomilky. Vzhledem k cílům práce, které se snaží najít spojení mezi CK1 a rakovině prsu, je více než vhodné, aby součástí práce bylo i identifikování lidských homologů proteinů uvedených v tabulce 3.2. a 3.3. Mohla by autorka tyto informace jako součást obhajoby doplnit?

Závěrem shrnuji, že předložená diplomová práce plně splňuje požadavky kladené na tento typ práce, a proto ji doporučuji k obhajobě se známkou „výborně“.

Mgr. Vítězslav Bryja, PhD

Přírodovědecká fakulta MU

Kotlářská 2, Brno