

Hodnocení školitele magisterské práce Specification of the pheromone receptor repertoire of the domestic dog (*Canis familiaris*) at DNA level, vypracované Bc. Petrem Prášilem

Cílem magisterské práce bylo identifikovat všechny geny pro receptory rodiny V1R v genomu psa domácího, a naklonovat je do expresního vektoru. Práce je součástí dlouhodobějšího úsilí o objasnění způsobu rozpoznávání feromonů u savců. Pes domácí se k tomuto úsilí jeví jako mimořádně příhodný modelový organismus, jak díky zřejmému, robustnímu, a obecně známému feromonově indukovanému chování, tak díky malému počtu chemoreceptorových genů přítomných v genomu. Tento malý počet genů v principu umožňuje kompletní funkční charakterizaci celého receptorového repertoáru, což je kvůli velkému počtu receptorových genů (stovky) prakticky nemožné u jiných běžných modelových organismů, zejména hlodavců. Mezi chemoreceptorovými rodinami přítomnými u psa se receptory rodiny V1R jeví jako nejvhodnější k funkční charakterizaci, jednak díky jejich malému počtu, a druhá díky tomu, že tyto receptory signalizují prostřednictvím G proteinu Gαi2. Aktivaci tohoto G proteinu je sice běžně téměř nemožné pozorovat, avšak naše pracoviště disponuje světově unikátním dvoufotonovým polarizačním mikroskopem, jehož pomocí je mj. aktivita G proteinu Gαi2 velmi citlivě pozorovatelná. Funkční studie receptorů V1R tudíž dobře zapadají do práce naší laboratoře, a jsou logickou aplikací zobrazovací techniky dvoufotonové polarizační mikroskopie, opublikované naší laboratoří v roce 2011 v časopise Nature Methods.

Cíle magisterské práce bylo z velké části dosaženo – v genomu psa bylo identifikováno 8 pravděpodobně funkčních genů rodiny V1R, shodných s publikovanými geny. Přítomnost dalších V1R genů byla s velkou pravděpodobností vyloučena. Identifikované geny byly úspěšně amplifikovány pomocí PCR, což vyžadovalo důslednou optimalizaci reakčních podmínek. Klonování identifikovaných genů se setkala s nečekanými technickými obtížemi, které však byly nakonec do velké míry překonány. Výsledkem je sada konstruktů obsahující všech 8 žádaných genů V1R v klonovacím vektoru umožňujícím snadný přesun genů do expresního vektoru, a jeden konstrukt obsahující gen V1R v expresním vektoru. V průběhu práce bylo identifikováno několik neznámých odchylek (single nucleotide polymorphisms) od sekvence uvedené v genomové databázi, které mohou mít vliv na funkční vlastnosti identifikovaných receptorů.

Při práci na diplomovém projektu získal Petr Prášil zkušenosti s řadou softwarových nástrojů používaných v práci s sekvencemi proteinů a DNA, a seznámil se s různými genomovými databázemi. Především ale získal řadu praktických laboratorních dovedností, zejména spojených s prací s DNA. Při práci v laboratoři osvědčil Petr chvályhodnou míru samostatnosti. Průběh magisterské práce, zejména doba potřebná k jejímu dokončení, byl negativně ovlivněn technickými obtížemi při klonování identifikovaných receptorů, ale i Petrovými dalšími zájmy a aktivitami. Prospěšná by bývala byla i lepší průběžná práce s dostupnou literaturou a porozumění genomové organizaci, struktuře a funkci zkoumaných proteinů, ale i mechanismům rozpoznávání a funkce savčích feromonů. Magisterská práce je vypracována v anglickém jazyce, což je chvályhodné. Zpracována je přehledně a v dostatečném rozsahu (45 stran). Dle mého názoru, předložená práce plně splňuje požadavky kladené na magisterské práce, a doporučuji ji proto ke schválení.

V Č. Budějovicích, 24.5.2012

Josef Lazar, Ph.D.

