

Posudek práce

předložené na Matematicko-fyzikální fakultě
Univerzity Karlovy

posudek vedoucího X posudek oponenta
 bakalářské práce X diplomové práce

Autor/ka: Sára Belejová

Název práce: Cellular protein interactions studied by advanced fluorescence imaging methods

Studijní program a obor: Fyzika, Biofyzika a chemická fyzika

Rok odevzdání: 2023

Jméno a tituly oponenta: Jan Krůšek RNDr., CSc.

Pracoviště: Fyziologický ústav AVČR

Kontaktní e-mail: krusek@biomed.cas.cz

Odborná úroveň práce:

X vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Věcné chyby:

X téměř žádné vzhledem k rozsahu přiměřený počet méně podstatné četné závažné

Výsledky:

X originální původní i převzaté netriviální kompilace citované z literatury opsané

Rozsah práce:

veliký X standardní dostatečný nedostatečný

Grafická, jazyková a formální úroveň:

X vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Tiskové chyby:

X téměř žádné vzhledem k rozsahu a tématu přiměřený počet četné

Celková úroveň práce:

X vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Slovní vyjádření, komentáře a připomínky oponenta:

Práce se zabývá studiem interakce dvou jaderných proteinů pomocí značení fluorescenčními značkami a kvantifikace Förstrova rezonančního přenosu energie pokročilými spektroskopickými technikami. Protein p53 je tumor supresor a nucleophosmin je protein, který s ním může interagovat. Základními experimentálními otázkami práce bylo, za jakých podmínek se proteiny a jejich mutované varianty vyskytují jako monomery nebo oligomery, jak spolu interagují a zda jsou lokalizovány v buněčném jádře, nebo v cytoplasmě. Studované proteiny byly značeny fluorescenčními proteiny mVenus a mRFP1 a byly exprimovány v linii buněk HEK 295T. Jejich blízkost a tím i míra přenosu energie byla stanovována pomocí míry anizotropie fluorescence a měření dohasínání anizotropie fluorescence. Pokud bylo využito značení oběma fluorofory současně – heteroFRET, bylo použito fotovybělení akceptoru k vyvolání změny doby života donoru. Pokud bylo využito jen jednoho fluoroforu - homoFRET, byla po částečném vybělení měřena změna anizotropie spojená s přenosem energie mezi stejnými fluorofory.

Výsledky práce ukázaly, že mutace v obou proteinech ovlivňují oligomerizaci a tvorbu komplexů.

Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:

Poznámka: Fluorescenční značky mají poměrně velkou molekulovou hmotnost, vzhledem ke značeným proteinům (asi jedna polovina), není proto překvapivé, že záměna fluoroforu může vyvolat mírnou změnu jejich funkce.

Otázky:

- 1) Jsou známy informace o přirozených koncentracích proteinů p53 a nucleophosmin v HEK 293 buňkách? Mohla by interakce mezi značenými a přirozenými neznačenými proteiny ovlivnit studované interakce (třeba formou tvorby smíšených komplexů) ?
- 2) Fluorescenční značky byly připojeny na konci studovaného proteinu. Jsou známa jiná vhodná místa, kde by mohly být tyto proteiny fluorescenčně značeny?

Práci

doporučuji

nedoporučuji

uznat jako diplomovou/bakalářskou.

Navrhuji hodnocení stupněm:

výborně velmi dobře dobře neprospěl/a

Místo, datum a podpis oponenta: V Praze 23.8. 2023