

Posudek školitele diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: Bc. Nicola KOUPILOVÁ

Název práce: Strukturní charakterizace lidské proteinkinasy CaMKK2 a jejích interakcí s vazebnými partnery

Hodnocení jednotlivých aspektů práce (ve standardní stupnici 1 až 4)

1. Samostatnost uchazeče/ky

Ve fázi zpřesňování tématu práce	1
Během zpracování zadaného tématu	1
Při sepisování práce	1

2. Komunikativnost, schopnost spolupráce

1

3. Zájem o práci a pracovní nasazení uchazeče/ky

1

Případný slovní komentář k bodům 1. až 3. :

Cílem diplomové práce Nicoloy Koupilové byla strukturní charakterizace komplexu lidské proteinkinasy CaMKK2 s proteinem 14-3-3, zejména pak zjistit jestli v komplexu dochází k interakci mezi katalytickou doménou CaMKK2 a proteinem 14-3-3. Deregulace aktivity CaMKK2 je součástí řady patologických stavů včetně obezity, diabetu 2. typu či neurodegenerativních onemocnění. Proto tento enzym představuje zajímavý cíl pro terapeutickou intervenci a objasnění mechanismu jeho regulace a hledání látek, které by byly účinnými a specifickými inhibitory je věnována značná pozornost.

V rámci své diplomové práce Nicola Koupilová úspěšně exprimovala a purifikovala příslušné proteiny (různé varianty CaMKK2, CaM, 14-3-3), dále optimalizovala protokol pro fosforylaci CaMKK2 a následně charakterizovala komplex CaMKK2:14-3-3 pomocí metod SV-AUC, SAXS, HDX-MS a XL-MS. Výsledky této diplomové práce ukázaly, že lidská CaMKK2 obsahující dva fosforylované 14-3-3 vazebné motivy vytváří s proteinem 14-3-3 kompaktní a stabilní komplex, ve kterém jsou oba fosforylované motivy navázány do vazebných žlábků obou protomerů v rámci dimeru proteinu 14-3-3 a zároveň katalytická doména CaMKK2 přímo interaguje s proteinem 14-3-3. Jestli mají tyto interakce mezi 14-3-3 a katalytickou doménou CaMKK2 nějaký funkční význam je zatím neznámé, nicméně mohly by vysvětlit zvýšení enzymové aktivity CaMKK2 či naopak inhibici CaMKK1 po vazbě proteinu 14-3-3.

Nicola Koupilová se v průběhu řešení DP seznámila s metodami přípravy rekombinantních proteinů, fosforylace proteinů a jejich biofyzikální charakterizace. Na svém diplomovém projektu pracovala velmi pečlivě a samostatně a o studovanou problematikujevila značný zájem. Získané výsledky jsou součástí právě připravované publikace.

Stanovisko k opravě chyb v práci: opravný lístek/oprava v textu **NENÍ** podmínkou přijetí práce

C. Celkový návrh

Práci doporučuji k přijetí k dalšímu řízení: **ANO**

Navrhovaná celková klasifikace: 1

Datum vypracování posudku: 2. 7. 2021

Jméno a příjmení, podpis školitele: prof. RNDr. Tomáš Obšil, Ph.D.