



## Oponentský posudek na diplomovou práci Daniela Rozbeského „Rekombinantní exprese a studium receptorů mNKR-P1A a mNKR-P1C“

Diplomová práce Daniela Rozbeského, studenta Přírodovědecké fakulty UK v Praze byla připravena v Laboratoři architektury proteinů Sektoru imunologie a gnotobiologie Mikrobiologického ústavu AV ČR, pod vedením Prof. Karla Bezoušky. Skupina Prof. Bezoušky je známa svými prioritními pracemi o lymfocytárních receptorech s lektinovými vlastnostmi a zejména nezastupitelným podílem na objevu receptorů přirozených zabíječských (NK) buněk.

Předložená práce má 103 stran a je bohatě doplněna schémata, grafy, obrázky a tabulkami. Práce je formálně dělena obvyklým způsobem. Na předmluvu, ve které je shrnut význam studia lektinových receptorů NK buněk, navazuje zdařilý literární přehled popisující úlohu NK buněk v imunitních reakcích, jejich receptory a možné imunoterapeutické aplikace. Popis experimentálního materiálu a použitých metod je více než dostatečně detailní a zcela reprodučibilní. Experimentální část je rozdělena na řadu menších kapitol, které jsou vhodně doplněny obrazovou a tabulkovou dokumentací a které se věnují optimalizaci exprese a ověření správného poskládání myších NKR-P1 receptorů. Získané výsledky jsou věcně, zdrženlivě a kriticky diskutovány. Daniel ve své práci čerpal z impozantního množství více než dvou set literárních odkazů.

V diplomové práci je popsána optimalizace exprese a renaturační postupy při přípravě myšího receptoru NKR-P1A a NKR-P1C přirozených zabíječů. Velmi zdařilá a přínosná je část, která je věnována fyzikální a fyzikálně chemické charakterizaci rekombinantních receptorů. Práce je metodicky velmi bohatá a zcela jistě vhodně doplňuje výsledky celé laboratoře.

Dlouho jsem hledal nějaký nedostatek, který bych mohl vytknout a nakonec mohu jen upozornit na nesprávně psané hodnoty pH, které se uvádějí bez rovnítka.

Nicméně bych rád položil dvě otázky, které jsou spíše námětem do diskuse o budoucí práci.

- Jakým způsobem byly vybírány expresní systémy a proč byl vybrán právě vektor pET-30a(+)?
- Z vlastní zkušenosti vím, jak obtížné je optimalizovat expresní podmínky a renaturaci proteinu produkovaného v inkluzních tělíčkách, a proto mohu ocenit množství vloženého úsilí. Uvažujete v laboratoři o zavedení expresních systémů (i eukaryotických), kde by rekombinantní protein byl v solubilním stavu?

Práci laboratoře Prof. Bezoušky znám od samého vzniku, měl jsem možnost oponovat již několik diplomových prací, které vždy byly výjimečně dobré. Práce Daniela Rozbeského však určitě patří k tomu nejlepšímu a po dokončení publikací a rozšíření by mohla být i prací doktorskou. Závěrem mohu jednoznačně doporučit diplomovou práci Daniela Rozbeského k obhajobě.

Praha, 23. 5. 2009

RNDr. Martin Bilej, Dr.Sc.