

Doc.RNDr. Jan Konvalinka CSc.  
Skupina proteas lidských patogenů  
Flemingovo n. 2  
166 10 Praha 6

Telefon +220 183 218  
fax +220 183 578  
e-mail konval@uochb.cas.cz

## Posudek školitele na diplomovou práci Jana Tykvarta

Jan Tykvart začal pracovat v mé laboratoři již v době svého studia ve 2. ročníku, kdy se plně zapojil do projektu glutamátcarboxypeptidasy II, neuropeptidasy a nádorového antigenu prostaty. V rámci tohoto projektu jsme připravili celou řadu mutantů GCPII a naklonovali a charakterisovali i její lidské a zvířecí homology, případně další více- či méně podobné sekvenční varianty. Vzhledem k tomu, že tyto proteiny připravujeme rekombinantní expresí v hmyzích buňkách, která je velmi pracná, drahá a poskytuje často nízké výtěžky, potřebovali jsme zavést efektivní, jednoduchý a universální metodu purifikace těchto proteinů. Volba padla na afinitní chromatografii s použitím vazby streptavidin – biotin ve formě tzv. Avi-tagu.

Honza se během práce na své diplomové práci osvědčil jako velmi precizní a vynalézavý experimentátor, který se rychle učí nové techniky. Vedle práce s rekombinantní DNA, exprese a purifikace proteinů z hmyzích buněk a jejich enzymové charakterisace se Jan Tykvart naučil i práci s tkáňovými kulturami a některé histochemické techniky.

Považuji za zbytečné znovu shrnovat výsledky Honzovy diplomové práce. Osobně si velmi vážím výsledků, na jejichž přehled neměl při své presentaci dost času, a to přípravu plasmidů s různými lokalizačními signály pro ligasu BirA v různých kompartmentech buňky, a analýsu toho, která lokalisace je pro produkci biotinylované formy rekombinantního proteinu nejvýhodnější. O úspěšnosti Honzovy afinitně-purifikační metody svědčí i to, že oba proteiny, se kterými pracoval (modelová GCPII i protein NaaladaseL, který dříve nebyl připraven v rekombinantní formě) byly připraveny tak čisté, že poskytly krystaly vhodné k rentgenostrukturní analýze (obě struktury byly mezitím vyřešeny na spolupracujícím pracovišti na NCI Frederick).

Závěrem bych rád znovu zdůraznil, že Jan pracoval výborně, získal celou řadu publikovatelných výsledků a jsem velmi rád, že chce ve své práci pokračovat v mé laboratoři v rámci PhD. Plně doporučuji jeho diplomovou práci k obhajobě.

Praha, 23.5. 2009

Jan Konvalinka

