

Posudek školitele na diplomovou práci

školitelský posudek

Jméno školitele: Mgr. Libor Krásný, PhD

Datum: 28. 5. 2012

Autor: Jitka Jirát Matějčková

Název práce: Interakce vybraných bílkovin s RNA polymerázou z *Bacillus subtilis*

Zadané cíle práce, včetně tématu literárního přehledu:

Literární přehled: Rešerše regulace genové exprese zaměřená zejm. na iniciaci transkripce a podjednotku delta RNA polymerázy z gram-pozitivních bakterií.

- 1/ Hledání vazebných partnerů podjednotky delta RNAP.
- 2/ Příprava zkrácených variant podjednotky delta RNAP.
- 3/ Hledání homologů/analogů proteinu delta v jiných organismech.

Přístup studenta k práci s literaturou:

Jitka načetla literaturu potřebnou k orientaci v oboru. Tuto práci zúročila při psaní rešeršního úvodu své diplomové práce. Pokud jí studijní povinnosti dovolily, účastnila se našich pravidelných Journal Clubů, kde rozebíráme současné práce z oboru publikované v předních časopisech. Zde Jitka získala další zkušenosti ohledně kritického hodnocení publikovaných výsledků a jejich interpretace. Shrnuto, Jitce nečiní problémy abstrahovat podstatu z přečteného textu, porovnat tuto informaci s jiným článkem a vytvořit si vlastní názor, což je základ samostatné vědecké práce.

Přístup studenta k práci v laboratoři (přístup při učení se nových metod, aktivita, samostatnost, systematičnost práce i docházky do laboratoře):

Jitčin přístup byl příkladný. O práci projevovala zájem, naučila se celou škálu metod od klonování DNA, přes purifikaci proteinů, bioinformatickou práci s databázemi až po transkripční experimenty. O práci si vedla pečlivě dokumentované protokoly – další předpoklad úspěšné vědecké práce. Jitka u nás začala již bakalářskou prací a ve fázi práce diplomové prováděla většinu experimentů zcela samostatně. Docházka do laboratoře byla častá a to se také kladně projevilo na množství provedených experimentů.

Přístup studenta při sepisování práce:

Jitka měla psaní diplomové práce rozplánované s výrazným předstihem, tak aby nebylo nutné dokončovat na poslední chvíli. Díky tomu i výměna postupných verzí mezi studentem a školitelem proběhla v poklidném rytmu a k plné spokojenosti obou stran. Jitka napsala práci samostatně, pouze lehce vedena mírnými korekcemi školitele.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Jitce se podařilo vytčené cíle splnit.

Prvním cílem bylo hledání homologů proteinu SP_2234 ze *Streptococcus pneumoniae*, který byl již dříve pomocí Y2H přístupu identifikován jakožto vazebný partner podjednotky delta bakteriální RNAP. Jitka identifikovala dva proteiny byť jejich homologie s SP_2234 byla relativně nízká. Jitce se podařilo protein s vyšší homologií připravit v rozpustné formě a provést s ním experimenty adresující jeho schopnost vazby na deltu, resp. RNAP. Tyto experimenty ukázaly, že tento protein, YxbF, není vazebným partnerem delty. Tyto výsledky Jitka rovněž potvrdila transkripčními experimenty *in vitro*, kde pozorovala pouze nespecifický efekt tohoto proteinu. Je možné, že SP_2234 hraje roli v modulaci funkce podjednotky delta u *S. pneumoniae*, ale tato hypotéza by vyžadovala další studie. Protein YxbF tak rozšířil portfolio charakterizovaných proteinů naší laboratoře, který lze použít jako nespecifický protein bez významného účinku na RNAP/transkripci v kontrolních experimentech.

Druhým cílem byla příprava zkrácených forem podjednotky delta s cílem budoucího použití těchto proteinů při studiu funkce proteinu delta. Tento cíl se podařilo splnit a v současnosti již probíhají experimenty využívající tyto proteiny.

Třetím cílem bylo hledání homologů/ analogu proteinu delta či jeho částí. Podjednotka delta má unikátní C-terminální doménu (CTD), která je flexibilní a vysoce negativně nabitá. U bakteriální RNAP funguje mj. jako mimik nukleové kyseliny a zvyšuje afinitu RNAP vůči konsensus promotorové sekvenci (snižuje afinitu RNAP pro nespecifickou DNA). Jitka hledala v proteinových databázích eukaryotických organismů sekvence s podobně negativním nábojem. Toto hledání bylo úspěšné. Výsledkem byla řada např. transkripčních faktorů (TF) či proteinů interagujících s RNA. Negativně nabitě oblasti (vždy alespoň desítky ak) mohou fungovat analogicky jako CTD delty a zabránit vazbě TF na nespecifickou DNA. Ověření zda tomu tak je alespoň v některých případech bude otázkou budoucích experimentů.

Celkově Jitčino vystupování hodnotím výrazně kladně: precizní přístup k experimentům, zvědavost a vytrvalost. Rovněž pak i Jitčina optimistická povaha přispívá k jejím schopnostem vypořádat se s uloženými úkoly. Tyto vlastnosti jsou velmi kvalitním vkladem pro její budoucí kariéru. Hodně štěstí!

Návrh hodnocení školitele:

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis školitele: