

Posudek školitele na diplomovou práci

školitelský posudek

Jméno školitele: Václav Vopálenský

Datum: 11.9.2013

Autor: Michal Sýkora

Název práce:

Charakterizace transkripčního aparátu lineárních plasmidů kvasinky *Kluyveromyces lactis*

Zadané cíle práce, včetně tématu literárního přehledu:

Cílem této práce byla bioinformatická a experimentální charakterizace předpokládané vícepodjednotkové nekanonické RNA polymerázy kódované lineárními plasmidy kvasinky *Kluyveromyces lactis*. Tato polymeráza byla pouze předpovězena *in silico* a tudíž o ní neexistují žádná relevantní experimentální data.

Přístup studenta k práci s literaturou:

Michalův přístup k práci s literaturou je naprosto vzorný. Články aktivně vyhledává, v případě jejich nedostupnosti nemá problém autorům napsat apod. V literatuře se orientuje velmi dobře, je schopen se orientovat i v mnohdy velmi komplikovaných krystalografických publikacích a datech.

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

Michal začal pracovat v naší laboratoři již v bakalářském studijním programu značným tempem, ze kterého neslehl ani v navazujícím studiu magisterském. Velmi brzo si osvojil základní molekulárně-biologické metody, k nimž přidal postupem času mnoho metod náročných a pokročilých. Michal pracuje velmi precizně, ve výsledcích, kterých vygeneroval značné množství, je schopen se orientovat i po delší časové přestávce. Michal pracuje velmi samostatně, je schopen si experimenty plánovat, navrhovat i hodnotit.

Předmětem Michalova zájmu byla výše zmíněná RNA polymeráza a její téměř totální charakterizace. V záplavě získaných výsledků bych vyzdvihl nově vytvořený kvasinkový kmen obsahující RNA polymerázu s yEGFP značkou na N-konci. Takto modifikovaný kvasinkový kmen produkuje funkční RNA polymerázu, kterou je možno vypurifikovat pomocí imunoprecipitace. Ačkoliv nejsou prvotní experimenty příliš vydařené, a to díky nepříliš funkční komerčně dodávané soupravě, doufáme, že se nám po optimalizacích podaří pomocí GFP značky vypurifikovat a následně charakterizovat celý transkripční aparát lineárních plasmidů. Dalším zajímavých a slibným výsledkem je vytvoření a prvotní otestování bakteriálních expresních plasmidů s naklonovaným genem pro RNA polymerázu. Michal prokázal, že bude, alespoň doufáme, možné tento protein nadprodukovat v bakteriálních expresních systémech. V tomto případě bude nutná určitá optimalizace, ostatně jako v případě výše uvedených imunoprecipitací. Pozornost také zaslouží velmi rozsáhlá bioinformatická analýza RNA polymerázy, kterou zpracoval zcela samostatně, a ve které se mu podařilo potvrdit a dokonce rozšířit důkazy zařazující tento ORF mezi RNA polymerázy.

Je nutno podotknout, že Michal prováděl i další experimenty, většinou zaměřené na charakterizaci produktů dalších čtecích rámců lineárních plasmidů *K. lactis*. Jelikož ovšem tyto „vícepráce“ nesouvisí s charakterizací transkripčního aparátu, nejsou v diplomové práci uvedeny.

K Michalově vědecké práci obecně mám pouze drobnou výtku, která směřuje k jeho nepřilíživě velké ochotě pouštět se do rozsáhlejších optimalizací čehokoliv, zejména ovšem do optimalizací bakteriální exprese.

Přístup studenta při sepisování práce:

Michal začal se sepisováním diplomové práce včas a dodával mi postupně, většinou ve výsledku pouze k nahlédnutí, svůj rukopis, do kterého jsem zasahoval pouze naprosto minimálně. Jediným jeho nešvarem, který se ho drží již od dob sepisování práce bakalářské a který jsem byl tedy nucen korigovat, bylo občasné nadužívání velmi dlouhých a komplikovaných souvětí. Nicméně předkládaná práce se téměř neliší od rukopisu, který jsem dostal ke korekci. Dle mého názoru se jedná o dílo nadprůměrné kvality, které značně přesahuje požadavky kladené na práci diplomovou.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Michalovu diplomovou práci a stejně tak jeho celé dosavadní působení v naší laboratoři hodnotím velmi kladně a těším se, tedy v případě úspěšného obhájení této diplomové práce, na její pokračování v rámci jeho postgraduálního studia.

Návrh hodnocení školitele:

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis školitele: