

## Posudek školitele na diplomovou práci

školitelský posudek

Jméno školitele: *Dr. Ing. Michaela Rumlová*

Datum: *14.5.2013*

Autor: *Ing. Martin Obr*

Název práce:

*NMR struktura N-terminální domény kapsidového proteinu Mason-Pfizerova opičího viru nesoucí mutaci narušující skládání kapsidy*

### Zadané cíle práce, včetně tématu literárního přehledu:

- *Vyhledat a zpracovat aktuální odborné materiály zabývající se skládáním retrovirových částic a strukturními proteiny retrovirů; a na základě těchto materiálů zpracovat literární rešerši.*
- *Připravit plasmidové DNA pro expresi proteinu CANTD R14K a D111N.*
- *Pomocí rekombinantní exprese v *E. coli* připravit proteiny CANTD R14K a D111N, značené izotopy  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ .*
- *Purifikovat připravené proteiny.*
- *Ověřit čistotu a správnost sbalení připravených proteinů.*
- *Prozkoumat vliv mutací R14K a D111N na strukturu proteinu CANTD.*

### Přístup studenta k práci s literaturou:

*Martin Obr vypracoval velmi přehlednou a aktuální rešerši, aktivně si vyhledal nejnovější publikace.*

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

*Martin se velmi snadno a lehce dokázal zorientovat v oboru. Zvládnul celou řadu náročných technik, od návrhu postupů při mutagenезi a klonování do expresních vektorů, purifikaci rekombinantních proteinů, až po techniku NMR spektroskopie. Iniciativně přicházel s nápady, aktivně se zapojoval do diskusí a samostatně a logicky řešil nastalé problémy. Martin pracoval systematicky, je pracovitý a zručný, na výsledky jeho práce se můžeme spolehnout.*

### Přístup studenta při sepisování práce:

*Diplomovou práci sepsal diplomant samostatně s minimálním vkladem školitele. Práce je sepsána srozumitelně, výsledky jsou řazeny přehledně a závěry, z nich vyvozené, jsou logické.*

### Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

*Zadané cíle diplomové práce byly splněny.*

*Téma této DP je součástí problematiky zabývající se studiem domén a interakcí nezbytných pro skládání nezralých a zralých retrovirových částic (HIV, Mason-Pfizerův opičí virus M-PMV), které se v naší laboratoři věnujeme již téměř 15 let. Martinova práce se soustředila na interakce nezbytné pro tvorbu zralé, infekční částice. Naše předchozí práce na této problematice ukázaly, že pro tvorbu infekční kapsidy je nezbytná stabilizace N-koncové části*

*kapsidového proteinu (NTD CA) pomocí interakce mezi N-koncovým prolinem a aspartátem v pozici 57. Na základě naší předešlé práce, na které se podílel i Martin v rámci své Bakalářské a Diplomové práce na VŠCHT Praha, (které mají s předkládanou Diplomovou prací nulový překryv), si diplomant připravil dva mutanty D111N a R14K, příslušné proteiny purifikoval a pomocí NMR spektroskopie určil a porovnal struktury mutantů se známou strukturou divokého typu. Jeho výsledky potvrdily naši hypotézu o klíčové roli určitých částí NTD CA domény pro skládání a stabilizaci maturní virové částice. Kromě aminokyselin, u kterých byly vzájemné interakce očekávány t.j. rezidua 3-6 v N-koncové oblasti a rezidua 113-115 v helixu 5, byly identifikovány i další oblasti t.j. smyčka mezi helixy 2-3, smyčka mezi helixy 5 a 6 a část helixu 6. Tato rezidua jsou v současné době mutována a jejich přímý vliv na skládání a infektivitu M-PMV bude testován. Martinův příspěvek k této práci je zcela zásadní a po doměření výše uvedených dat bude tato práce dokončena a zaslána k publikování v některém z prestižních virologických časopisů.*

*O tom, že je Martin zcela výjimečný student svědčí i to, že po dokončení studia na UK, což bude jeho již druhý vysokoškolský titul, byl přijat na postgraduální studium do přední evropské virologické laboratoře Dr. Hans-Georg Kraeusslicha v Heidelbergu.*

*Práce splňuje všechny požadavky, a proto jí doporučuji přijmout k obhajobě.*

Návrh hodnocení školitele:

**výborně**    velmi dobře    dobře    nevyhověl(a)

Podpis školitele: