

Posudek školitele na diplomovou práci

školitelský posudek

Jméno školitele: Jiří Janata

Datum: 28.5.2015

Autor: Šimon Vobruba

Název práce:

Substrátová specifita adenylačních domén synthetas v sekundárním metabolismu

Zadané cíle práce, včetně tématu literárního přehledu:

Diplomová práce navazuje na publikaci Kadlčík et al. 2013, v níž byla prokázána funkce dvojice homologních proteinů LmbC a CcbC v biosyntéze linkosamidových antibiotik linkomycinu a celesticetinu. Tyto proteiny fungují jako adenylační domény (A-domény) linkosamid synthetasy, která řídí kondenzaci aminokyselinového a aminocukerného prekurzoru antibiotika. Byly postulovány aminokyselinové zbytky substrát-vazebného místa A-domén zodpovědné za rozdílnou substrátovou specifitu porovnávaných enzymů.

Cílem diplomové práce bylo: 1. Stanovit vliv vybraných aminokyselinových zbytků neribozomálního kódu LmbC na substrátovou specifitu LmbC pro propylprolin (PPL). 2. Návrh, příprava a testování mutantních forem LmbC a CcbC se změněnými aminokyselinovými zbytky neribozomálního kódu s cílem připravit adenylační domény (LmbC i CcbC) s pozměněnou afinitou k L-prolinu a PPL.

Téma literárního přehledu bylo stanoveno: 1. Sekundární metabolismus, biosyntetické genové shluky, horizontální genový přenos. 2. Nejčastější mechanismy evoluce biosyntézy sekundárních metabolitů. 3. Linkosamidová antibiotika. 4. Linkosamid synthetasa a její adenylační doména.

Přístup studenta k práci s literaturou:

Student dokázal pracovat s literaturou nad průměrem obvyklým u diplomantů, nacházel v ní mnoho příkladů vhodně dokreslující základní principy molekulární evoluce bioaktivních přírodních látek, ukazující paralely s postupy volenými při úpravě biosyntetických genových shluků metodami genového inženýrství. Aktivně dokázal začlenit náměty a připomínky vzešlé z konzultací se školitelem.

Přístup studenta k práci v laboratoři (přístup při učení se nových metod, aktivita, samostatnost, systematickosti práce i docházky do laboratoře): Student měl možnost projít širokým spektrem základních molekulárně genetických metodik práce s DNA i s rekombinantními proteiny, které jsou metodickým základem naší skupiny (cílená mutagenese, příprava konstruktů pro přípravu rekombinantních proteinů, optimalizace podmínek produkce a purifikace rekombinantních proteinů, funkční testování proteinů). Zprostředkovaně se seznámil i s metodami simulace molekulární dynamiky proteinů. Šimon přistupoval ke všem úkolům aktivně, byl schopen samostatně vyhodnocovat výsledky experimentů, ale i reagovat na náměty ze strany školitele nebo Stanislava Kadlčíka, který se výrazně podílel na každodenním vedení diplomanta. Výsledky své práce dokázal srozumitelně prezentovat na seminářích skupiny i na širších fórech, včetně posteru na mezinárodní konferenci.

Přístup studenta při sepisování práce: Student si sám vytvořil osnovu literárního přehledu, během konzultací jsem s ním korigoval pouze drobnosti. Podobně samostatně si počínal i při sepisování experimentální části práce i při zpracování diskuse. Náměty a připomínky ze strany školitele dokázal bez problémů akceptovat a zapracovat. Myslím, že výsledná práce je zpracována kvalitně, s minimem chyb, že výstupy jsou formulovány srozumitelně, což svědčí

o osvojení dané problematiky. Práce je součástí širšího projektu skupiny, zejména navazuje na práci S. Kadlčíka. Student však vždy jasně vymezuje svůj podíl práce, naznačuje návaznosti na práci kolegů a je zřejmé, že rozumí smyslu práce celé skupiny.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Cíle práce byly splněny a přinesly zajímavé výsledky, které se po vhodném doplnění a rozšíření mohou stát základem vědeckého článku. Výsledky mají i zřetelný význam aplikační, protože modifikace substrátové specifity A-domény kondenzačního enzymu otevírá cestu k účinnějším derivátům linkomycinu, nebo k potlačení vzniku nežádoucích vedlejších produktů. Nabízejí se další náměty na přímé pokračování práce (např. substrátová specifita A-domén v biosyntéze pyrrolbenzodiazepinů s protinádorovými účinky), tak na studiu dalších proteinů zahrnutých v kondenzačním kroku biosyntézy (protein LmbD), ale i v následných postkondenzačních krocích (LmbF/CcbF, LmbIH, LmbQ, LmbG). To jsou náměty na téma dizertační práce.

Návrh hodnocení školitele:

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis školitele: