



Věc: Posudek školitele diplomové práce pana Mariána Grockého „Měření C-13 relaxací karbonylových skupin v proteinech“

V Praze, 11.5.2007

Diplomová práce pana Mariána Grockého se zabývá implementací metodiky měření NMR ^{13}C relaxací karbonylových skupin v páteři proteinu, její optimalizací a praktickou aplikací na přirozenou a mutovanou variantu matrixového proteinu Mason-Pfizerova opičoho viru. Diplomová práce je součástí širšího projektu výzkumu retrovirových proteinů, řešených především na VŠCHT v Praze a ÚOCHB AV ČR v Praze. Mason-Pfizerův opičí virus je příbuzný s virem HIV a v mnoha ohledech slouží jako modelový organismus pro pochopení zákonitostí retrovirového životního cyklu.

Práce začíná teoretickou částí, ve které diplomant zhruba na dvaceti stranách shrnul princip NMR a nastínil vztah relaxačního chování jaderných spinů ^{13}C karbonylu a ^{15}N amidických skupin s dynamikou proteinu. Jsou také popsány pulzní sekvence potřebné pro měření. V dalších třech podkapitolách jsou popsány základní vlastnosti Mason-Pfizerova opičoho a viru a zejména jeho matrixového proteinu. Je objasněn význam mutace 55. residua i v kontextu s příbuzným virem HIV. Teoretická část je věcně správná, vyvážená a rozsahem odpovídající.

Experimentální část zahrnuje jednak popis měřených vzorků, detaily nastavení NMR spektrometru pro měření a popis zpracování experimentálních dat až k výpočtu dynamických parametrů. Podstatná je část, ve které je detailně popsána funkce pulzní sekvence pro detekci ^{13}C relaxací. Tato sekvence je poměrně komplikovaná, zahrnuje pulzy na 3 frekvencích, přičemž ^{13}C pásmo je

RNDr. Jan Lang, Ph.D.

telefon: 22191 2889

e-mail: Jan.Lang@mff.cuni.cz

Katedra fyziky nízkých teplot

V Holešovičkách 2, 182 00 Praha 8

telefon: 22191 2565, 22191 2567

fax: 22191 2567

e-mail: mfkfnt@mbox.troja.mff.cuni.cz

rozděleno na dvě části. Pulzní sekvence zahrnuje např. celkem čtyři koherentní přenosy magnetizace mezi jednotlivými aktivními jádry.


V podkapitole Výsledky a Diskuse autor prezentuje naměřené ^{15}N a ^{13}C relaxační parametry a z nich vypočítané charakteristiky molekulárního rotačního pohybu. Chování obou forem proteinu je spolu s diskusí zavedené metodiky přehledně porovnáno v poslední části.

Přínosem práce je zavedení nové experimentální techniky NMR a její aplikace na dvě formy retrovirového proteinu. Vedle toho byly naměřena dosud nejkvalitnější sady relaxační dat na amidických ^{15}N . Získané hodnoty posloužily k popsání lokální dynamiky páteří obou proteinů. Zvláště cenné je přehledné srovnání parametru uspořádanosti vzhledem k tomu, že se obě formy liší ve vzájemné orientaci jednotlivých helixů. Tato práce významně přispěje k objasnění rozdílné vazby obou forem proteinu na molekulární motor, která vede podstatným rozdílem v morfogenezi viru.

Diplomant prokázal, že má hluboké znalosti v teorii i v experimentální technice nukleární magnetické rezonance. Ty dokázal propojit s biologickou aplikací. Při analýze dat ukázal, že zvládá jejich počítačové zpracování včetně odhadu chyby výsledků. K jejich diskusi potom přistupuje korektně a kriticky. Při řešení projektu diplomant uplatnil samostatný přístup, který byl v rovnováze se schopností spolupráce v širším řešitelském týmu. Zároveň oceňuji pečlivost při zpracování velkého množství experimentálních dat.

Výsledky této diplomové práce budou součástí odborné publikace.

Dokončením diplomové práce diplomant nesporně prokázal znalosti a schopnosti odpovídající magisterskému stupni studia na MFF UK v Praze. Doporučuji diplomovou práci k obhajobě a navrhuji klasifikovat ji stupněm výborně.



Jan Lang