



Prof. RNDr. Karel Bezouška DSc.
Katedra biochemie
Univerzita Karlova Přírodovědecká fakulta
Hlavova 8
12840 Praha 2

Tel. +2-2195-1272 Fax.+2-2195-2331
E-mail: bezouska@biomed.cas.cz

Posudek školitele na diplomovou práci Petry Němcové nazvanou „Rekombinantní exprese a studium receptoru rNKR-P1“

Diplomová práce Petry Němcové se zabývá velmi aktuální problematikou současného imunologického výzkumu, totiž produkcí rozpustné formy membránového receptoru přirozených zabíječských buněk a hledáním sacharidových ligandů pro tento receptor. Přestože je receptor NKR-P1A potkana v naší laboratoři studován již 18 let, a výzkum jeho struktury a ligandů je předmětem řady publikací naší laboratoře, vyvstala přesto potřeba jeho produkce v množství a stabilitě dostatečné pro uskutečnění strukturních studií. Cílem diplomové práce Petry Němcové tedy bylo vyhodnotit a optimalizovat různé protokoly rekombinantní exprese tohoto receptoru, připravit tento receptor v rozpustné podobě, a solubilní protein poté využít pro výzkum jeho sacharidových ligandů.

Ke své práci přistupovala Petra Němcová svědomitě, a pracovala systematicky, pečlivě a s vysokým nasazením. I když byla jí sledovaná problematika zdánlivě v laboratoři velmi rozpracovaná, musela vyhodnotit a zkonsolidovat řadu laboratorních postupů používaných v předcházejících letech, a nevyhnula se ani nutnosti několikrát začít téměř od nuly s konstrukty zahrnujícími různě dlouhé úseky extracelulárního segmentu studovaného receptoru v rámci dosažení dobré úrovně exprese a přípravy vysoce rozpustného proteinu. Cíle diplomové práce byly nakonec splněny bezesbytku, podařilo se nalézt konstrukt vedoucí k získání vysokého množství dostatečně stabilního proteinu vhodného pro další strukturní studie. Získané výsledky tak nejen potvrdily řadu již publikovaných poznatků, ale nalezením podmínek pro produkci dostatečného množství vysoce stabilního a rozpustného proteinu otevřelo cestu pro další zkoumání receptoru rNKR-P1 s pomocí řady moderních sofistikovaných experimentálních technik (krystalizace, rozptyl rentgenovského záření, NMR atd.).

Na základě získaných výsledků sepsala Petra Němcová předkládanou diplomovou práci, která je svým rozsahem bohatě dokumentovaná, a velmi bohatá též z hlediska myšlenkového i výsledkového. Literární úvod, který je psán velmi srozumitelně a čtivě, je ilustrován řadou pekných obrázků, a přitom zahrnuje řadu nejnovějších poznatků z oboru. Metodická část je vyčerpávající, a umožňuje pochopit a reprodukovat prováděné laboratorní postupy. Výsledková část je velmi detailní, a každý výsledek je podrobně popsán. Diskuse je věcná a střízlivá, správně interpretuje získané výsledky. Vzhledem k výše uvedeným okolnostem se domnívám, že diplomová práce Petry Němcové splňuje veškeré požadavky kladené na diplomové práce na katedře biochemie PŘFUK a doporučuji ji proto k obhajobě.

Praha, 29.4.2009

Prof. RNDr. Karel Bezouška DSc.