

Posudek vedoucího diplomové práce.

Rašíd Kamal

Vedoucí diplomové práce: doc. Ing. Richard Hrabal, CSc.

Rašíd Kamal začal na své diplomové práci s názvem „Strukturní studie mutantu S6A matrixového proteinu Mason-Pfizerova opičího viru“ pracovat po svém nástupu do 1. ročníku magisterského studia oboru Buněčná a vývojová biologie na Přírodovědecké fakultě University Karlovy v Praze. Diplomovou práci vypracoval dílem na Ústavu biochemie a mikrobiologie Fakulty potravinářské a biochemické technologie VŠCHT Praha a dílem v Laboratoři nukleární magnetické rezonance těžce vysoké školy. Jeho úkolem bylo připravit mutant matrixového proteinu Mason-Pfizerova opičího viru S6A a pokusit se vyřešit jeho strukturu pomocí kombinace izotopově podporované NMR spektroskopie a výpočetních metod a porovnat jí s již známou strukturou divokého typu. Diplomová práce je součástí projektu studia jednotlivých fází životního cyklu výše zmíněného viru. Hydroxylová skupina serinu 6 tvoří ve struktuře divokého typu vodíkový můstek s amidickým dusíkem glutamátu 9, což způsobuje relativně nižší flexibilitu N-konce matrixového proteinu, který je modifikován zbytkem kyseliny myristové. Pohyblivost N-konce je důležitá pro správnou funkci tzv. „myristoylového přepínače“, kdy dochází reverzibilně k expozici myristoylového zbytku a jeho zpětnému zanoření do těla matrixového proteinu podle konkrétní fáze životního cyklu viru.

Diplomantovi se podařilo připravit konstrukt DNA výše zmíněného mutantu, vložit jej do buněk *E. coli*, exprimovat a purifikovat bílkovinu, obohatit jí nespecificky izotopy ^{13}C a ^{15}N . S takto připraveným vzorkem nasnímal sadu NMR experimentů, spektra úspěšně interpretoval ve smyslu přiřazení signálů ve spektrech jednotlivým atomům studované molekuly. Na základě takto interpretovaných spekter vypočítal index chemického posunu, pomocí něhož odhadl rozmístění prvků sekundární struktury. Spočetl ještě tzv. parametr uspořádanosti, který mu poskytl informaci o flexibilitě peptidového řetězce. Zjistil, že základní strukturní motiv čtyř helixů, který je typický pro MA proteiny Mason-Pfizerova opičího viru, se oproti divokému typu, výrazně nezměnil. Z výpočtu parametru uspořádanosti vyplynula jistá nepatrná změna flexibility N-konce tohoto mutantu ve srovnání s divokým typem. Nepodařilo se mu strukturu vypočítat.

Rašíd Kamal zvládl laboratorní postupy využívané pro přípravu rekombinantních proteinů a jejich izotopově obohacených ($^{13}\text{C}/^{15}\text{N}$) analogů. Měl trochu obtíže se zvládnutím

technik multidimensionální NMR spektroskopie, ale nakonec se mu to podařilo. Diplomovou práci sepsal pečlivě a srozumitelně, proto jí doporučuji k obhajobě a hodnotím stupněm **B**.

V Praze, dne 25.5. 2011

doc.Ing. Richard Hrabal, CSc.