

Posudek školitele na diplomovou práci

školitelský posudek

Jméno školitele: Jiří Janata

Datum: 5.6.2012

Autor: Dana Chytrá

Název práce:

Charakterizace glycinové smyčky alfa podjednotky mitochondriální procesující peptidasy *Saccharomyces cerevisiae*

Zadané cíle práce, včetně tématu literárního přehledu:

Cílem práce bylo optimalizovat systém pro studium mechanismu rozpoznání proteinových substrátů mitochondriální procesující peptidasou (MPP) pomocí fluorescenčních metod. To spočívalo v konstrukci alfa podjednotky MPP s jediným tryptofanovým zbytkem v různých pozicích „glycinové smyčky (GRL) této podjednotky a příprava chimérických proteinových substrátů s různou délkou N-koncové signální presekvence. Tento optimalizovaný systém byl využit pro sledování protein-protein interakce pomocí metody časově rozlišené fluorescenční spektroskopie.

Zadáním literárního přehledu bylo: 1. Zpracovat stručný přehled mechanismu importu proteinů z cytosolu do mitochondrie a organel mitochondriálního typu. 2. Podrobně se zaměřit na procesující peptidasy mitochondriálního typu, včetně bakteriálních peptidas rodiny M16, ze kterých pravděpodobně MPP evolučně vznikla.

Přístup studenta k práci s literaturou:

Studentka prokázala během experimentální práce a zejména pak při zpracování literárního přehledu, že je schopná samostatně pracovat s literaturou. Literární přehled je zpracován logicky, vyváženě a obsahuje recentní zdroje. Podává dostatečný teoretický základ pro experimentální část a diskusi.

Přístup studenta k práci v laboratoři (přístup při učení se nových metod, aktivita, samostatnost, systematická práce i docházky do laboratoře): Podstatnou částí diplomové práce je vývoj vylepšeného systému pro sledování interakce MPP-substrát, tedy metodický základ pro vlastní experimenty s proteiny. Zde je třeba zdůraznit, že studentce se podařilo překonat několik kritických míst, přes která se předchozí studenti, a to včetně studentů doktorského studia, nedokázali přenést. Konkrétně to bylo odstranění přirozeného tryptofanového zbytku v pozici 223 alfa MPP, inkorporace reportérového tryptofanového zbytku do pozice 289 alfa MPP při zachování aktivity proteinu, příprava alfa-MPP s inkorporovaným analogem tryptofanu. To byly tedy zrádné a nevděčné úkoly a Dana v nich obstála. Byla nadmíru zručná a úspěšná ve své experimentální práci. Když se něco nedařilo jiným, jí se to obvykle podařilo. Jsem přesvědčen, že tomu napomáhá její pozitivní optimistická povaha a to, že se vždy staví k problémům čelem a pracuje systematicky. Studentka měla možnost projít širokým spektrem základních molekulárně genetických metodik práce s DNA i s rekombinantními proteiny, které jsou metodickým základem naší skupiny. Zprostředkovaně se seznámila i s fyzikálními metodami studia dynamiky proteinů.

Přístup studenta při sepisování práce:

Studentka si sama vytvořila osnovu literárního přehledu, během konzultací jsem s ní korigoval pouze drobnosti. Podobně samostatně si počínala i při sepisování experimentální části práce i při zpracování diskuse. Náměty a připomínky ze strany školitele dokázala 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 studentkou. Práce je součástí širšího projektu skupiny, ve kterém dále působí doktorandi Anna Matušková a Tomáš Kučera. Proto jde v některých aspektech o fragment většího celku, značnou část práce představuje vytvoření metodického nástroje pro následné experimenty dalších členů skupiny. Studentka 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: Studentka splnila všechny zadané úkoly, v některých případech díky své „experimentální štěstě“ se jí podařilo vykonat i něco nad tento rámec. Příkladem je příprava alfa-MPP s inkorporovaným analogem tryptofanu, což umožní budoucí experimenty, ve kterých bude dynamika interakce se substrátem sledována v systému s oběma podjednotkami MPP.

Celkově hodnotím Danu Chytrou jako chytrou, zručnou a milou spolupracovnici, jednoznačně nadprůměrnou studentku, srovnávám-li své odchovance za posledních patnáct let vedení diplomových prací.

Návrh hodnocení školitele:

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis školitele: