

## Posudek školitele na diplomovou práci

školitelský posudek

Jméno školitele: Jiří Janata

Datum: 5.6.2012

Autor: Petra Jiráčková

Název práce:

Příprava a charakterizace proteinu LmbX zúčastněného v biosyntéze antibiotika linkomycinu

### Zadané cíle práce, včetně tématu literárního přehledu:

Zadání této práce bylo v důsledku vývoje studovaného problému velmi dynamické: Původním zadáním bylo: 1. Připravit systém pro heterologní produkci a izolaci proteinu LmbX z biosyntézy linkomycinu 2. Prokázat pomocí funkčního testování rekombinantního proteinu LmbX jeho hypotetickou funkci pro přeměnu meziprojektu YT v biosyntéze linkomycinu (odštěpení glyoxalátu).

Zadání bylo v reakci na výsledky experimentů (předpokládaná funkce proteinu LmbX se neprokázala) i na nové informace z literatury rozšířeno o testování produktů mutantního kmene *Streptomyces lincolnensis* s inaktivovanými geny *lmbX*, *lmbA*, a *lmbW* z linkomycinového biosyntetického shluku. A nakonec si výsledky experimentů vyžádaly další rozšíření inaktivačních experimentů o geny *lmbY* a dvojitou inaktivaci *lmbW/lmbX*. Téma literárního přehledu bylo stanoveno: 1. Obecné principy molekulární evoluce antibiotik 2. Genetické a biochemické propojení biosyntézy linkosamidů, pyrrolbenzodiazepinů a hormaomycinu 3. Propylprolinová biosyntetická dráha

### Přístup studenta k práci s literaturou:

Průběžná práce s literaturou byla v tomto případě stěžejní, neboť právě nové podněty z literatury byly jedním z impulzů pro změny původní pracovní hypotézy i návrh dalších experimentů. A kombinace poznatků z literatury s výsledky těchto experimentů je základem pro konstrukci nové pracovní hypotézy o funkci nejen proteinu LmbX, ale i dalších proteinů propylprolinové dráhy. Úmyslně používám v poslední větě přítomný čas, protože tento proces neskončil sepsáním diplomové práce, je stále živý a vyvíjející se. Ačkoliv byla původní práce stavěna jako standardní až rutinní důkaz funkce jednoho z biosyntetických proteinů, stala se v průběhu velmi komplikovaným, ale o to zajímavějším příběhem, hádankou. Petra se tohoto procesu vyžadujícího aktivní práci s literaturou aktivně účastní, některé dílčí hypotézy sama formulovala, mj. jako důsledek práce s literaturou a s databázemi sekvencí (návrh funkce proteinu LmbA).

**Přístup studenta k práci v laboratoři** (přístup při učení se nových metod, aktivita, samostatnost, systematickosti práce i docházky do laboratoře): Původně mělo jít především o klasickou práci s rekombinantním proteinem, včetně přípravy genetických konstruktů pro jeho produkci. Zmíněným vývojem se záběr rozšířil o inaktivace genů v genomu producenta linkomycinu a testování produktů těchto mutantních kmenů metodami instrumentální analýzy. Navíc tak bylo nutno komunikovat s analytikem, ale i s organickým chemikem. To při úvahách o funkci LmbX i dalších proteinů. Bylo pro mě milým překvapením, že Petra tuto metodickou i komunikační expanzi s přehledem zvládala. Na tomto místě chci zmínit i zásluhu Mgr. Stanislava Kadlčíka, který mi jako školiteli pomáhal v neformální roli day-to-day školitele Petry. I díky němu se dokázala takto vyrovnávat s překvapivým vývojem tématu.

**Přístup studenta při sepisování práce:** Zmínil jsem velmi dobrou orientaci studentky

v literatuře, tu uplatnila při návrhu osnovy jednotlivých částí práce i při jejich sepisování. Měl jsem jen minimum práce s korekcemi. Výsledná podoba práce je prakticky totožná s původní Petřinou koncepcí. Jsem velmi spokojen s výsledkem všech částí diplomové práce. Je příkladem práce, kde jednotlivé části nejsou jen proto, že „se to tak vyžaduje“, každá skutečně plní svou funkci. Literární přehled je znalostním základem pro samotnou část experimentální a zejména funkčním odrazovým můstkem pro diskusi, tedy tak, jak to má být. Oproti původnímu záměru se situace významně zkomplikovala, experimenty se vyvíjely jinak, než byly původní hypotézy, z jednoduchého příběhu je složitá zápleтка. Ale Petra to v diskusi bravurně zvládla. Samozřejmě jsme její osnovu tvořili ve společné debatě, ale Petra se v ní neztratila, aktivně rozvinula současné možné varianty. Víme, že je jich podstatně víc, než je zde publikováno. Ale také víme, jaké experimenty naše současné otázky zodpoví.

**Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

Z předchozího textu je zřejmé, že splnění cílů není lehké v tomto případě hodnotit. Je zřejmé, že původní cíle naplněny nebyly, předpokládaná funkce proteinu LmbX se neprokázala. Ale práce dokázala starou hypotézu nahradit novou. Předpokládáme, že LmbX je isomerasa dvojně vazby. Z jednoduché přímočaré práce, patřičné pro zadání práce diplomové, vznikl složitý propletenec hypotéz modifikující nejen funkci proteinu LmbX, ale revidující celou biosyntézu propylprolinu. To je ideální výchozí stav pro start práce dizertační a Petra chce na problematice pokračovat ve svém doktorském studiu. A já to vítám.

Návrh hodnocení školitele:

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis školitele: