



# BIOLOGICKÉ CENTRUM AV ČR, v.v.i.

Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

Doc. RNDr. František Vácha, PhD

## Oponentský posudek bakalářské práce.

- Název práce:** Studium vlivu postranlačních modifikací na strukturu proteinů za využití *Leishmania tarentolae* jako expresního systému: vývoj metodiky k izotopického značení proteinů.
- Autor práce:** Jana Matulová
- Vedoucí práce:** RNDr. Silvie Trantírková, Ph.D.

Předložená bakalářská práce se zabývá vývojem metodiky pro přípravu izotopicky značených proteinů v expresním systému *Leishmania tarentolae*. Hlavním cílem práce bylo nalézt ekonomickou cestu přípravy izotopicky značených proteinů jako alternativy k současné metodě založené na použití syntetického růstového media. Studentka ve své bakalářské práci ukazuje, že možnou alternativou je použití standardního BHI media doplněného vhodnou izotopickou značkou. Ačkoliv v tomto případě je výsledný protein značen pouze částečně, je míra značení dostatečná pro získání kvalitních spekter nukleární magnetické resonance (NMR). Studentka ukazuje, že snížená míra inkorporace izotopické značky v komplexním BHI mediu je kompenzována většími výtěžky over-exprimovaného proteinu, a že může být dále kompenzována instrumentálně – nárůstem počtu scanů. Největší výhodou tohoto postupu jsou však velmi nízké náklady, které jsou zhruba 10x nižší než náklady spojené s použitím syntetického media. Předpokládám, že tato metodika levné přípravy izotopicky značených proteinů povede k masovějšímu používání *L. tarentolae* expresního systému pro účely NMR a rentgeno-strukturní analýzy.

Ačkoliv prezentovaný přístup umožňuje v principu velmi levnou přípravu izotopicky značených proteinů v *L. tarentolae* bylo by podle mého názoru vhodné určit stupeň inkorporace jednotlivých izotopicky značených aminokyselin v průběhu over-exprese v komplexním BHI mediu. Stejně tak, by bylo zajímavé se podívat na funkčnost prezentovaného přístupu pro izotopické značení neesenciálními aminokyselinami.

Předložená bakalářská práce má 40 stran, text je členěn přehledně a logicky takřka bez chyb a překlepů.

Je patrné, že naplnění cílů bakalářské práce vyžadovalo od studentky aktivní zvládnutí širokého spektra experimentálních metod a kreativní a samostatný způsob práce. Bakalářskou práci Jany Matulové považuji za velmi zdařilou a proto ji doporučuji k obhajobě.

## Dotazy

Při přípravě izotopicky značeného EGFP v komplexním BHI mediu studentka použila 150 mg dusíkem 15 ( $^{15}\text{N}$ ) značeného valinu na 1 L BHI media. Zajímalo by mě:

- na základě čeho studentka zvolila právě toto množství
- jaký je stupeň inkorporace  $^{15}\text{N}$ -valinu do EGFP

- c) bude tento stupeň inkorporace stejný i v případě značení ostatními esenciálními aminokyselinami
- d) bude výše uvedená metodika fungovat i pro neesenciální aminokyseliny, a pokud ano, tak s jakými omezeními
- e) z čeho se skládá Brain Heart Infusion medium a nešlo by použít jiné médium, ve kterém by byla jediným zdrojem dusíku látka obsahující  $^{15}\text{N}$

Název práce:  
využití

V Českých Budějovicích 3. června 2007

doc. RNDr. František Vácha, PhD.