

## Školitelský posudek magisterské diplomové práce Moniky Žuberové „Úloha ferochelatázy v regulaci biosyntézy chlorofylu a hemu“

Monika Žuberová se ve své magisterské práci zabývá regulací biosyntetické dráhy chlorofylu. Význam práce je zřejmý už z pouhého faktu, že syntéza chlorofylu je zásadní metabolická dráha pro život na Zemi. O to více je překvapivé, že se ani po desetiletích výzkumu nepodařilo zodpovědět základní otázku, jak je množství produkovaného chlorofylu v buňce kontrolováno. V Laboratoři fotosyntézy MBÚ v Třeboni se nedávno podařilo prokázat, že jedna z klíčových rolí v regulaci metabolismu chlorofylu patří ferochelatáze, enzymu, který se paradoxně na biosyntéze této molekuly vůbec nepodílí. Ferochelatáza sice syntetizuje hem, ale vzhledem k tomu, že používá substrát nezbytný i k syntéze chlorofylu, může kontrolovat, kolik substrátu bude nakonec k dispozici pro produkci chlorofylu.

Úkolem diplomantky bylo pozměnit, nebo zcela vyřadit tento mechanismus pomocí cílené mutagenese u modelové sinice *Synechocystis* 6803 a provést charakterizaci mutantních kmenů. To se jí beze zbytku podařilo splnit a objem získaných dat podle mého názoru jistě převyšuje běžný průměr magisterských prací. Pomocí připravených kmenů lokalizovala ferochelatázu v buňce a potvrdila význam konzervovaných aminokyselin v C-terminální doméně pro regulaci tohoto enzymu. Podařilo se jí tak velmi výrazně podpořit hypotézu předpokládající, že je ferochelatáza regulována vazbou chlorofylu na její koncovou transmembránovou doménu. Právě ověření této hypotézy je cílem projektu GA AV (KJB5817301), z kterého byla práce diplomantky M. Žuberové z největší části podporována. Nad rámec své magisterské práce diplomantka připravila expresní plazmid pro produkci modifikované ferochelatázy, kterým úspěšně komplementovala mutantní kmen *Escherichia coli*. Tyto výsledky budou součástí připravované publikace a diplomantka bude jedním ze spoluautorů.

Ačkoliv se ne vše podařilo napoprvé, diplomantka se nenechala odradit ani některými metodologickými těžkostmi a byla ochotna pro výsledky tvrdě pracovat. V laboratoři byla téměř denně, což v jejím případě znamenalo každodenní dojíždění z Českých Budějovic do Třeboně. Co považuji za velmi důležité, Monika Žuberová v žádném případě nebyla studentem, který přichází do laboratoře s otázkou „co mám dnes udělat?“. Byla velmi samostatná a kreativní, nutno však říci, že občas až příliš. Především zpočátku se tak ze školitele stával pasivní, někdy i zoufalý pozorovatel. Ovšem postupem času se diplomantka naučila velmi dobře spolupracovat. Mohu tak s radostí konstatovat, že v průběhu své diplomové práce si studentka osvojila nejen řadu metod molekulární biologie, ale také poznání, že předem definované parametry experimentu by se neměly měnit v jeho průběhu.

Domnívám se, že předložená magisterská práce má velmi dobrou úroveň a já ji bez připomínek doporučuji k obhajobě a navrhuji hodnotit ~~zámkou~~ výbornou..

V Třeboni 22.1. 2006

Ing. Roman Sobotka, PhD.

