



Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Škola komplexních systémů FROV

Zámek 136

373 33 Nové Hrady

DIČ 60076658

České Budějovice, 1.9.2012

Vyjádření školitele k plnění úkolů studijního plánu a k disertační práci Mgr. Julie Wolfové

Disertační práce s názvem „*Insight into the structure of tetrameric flavoprotein WrbA involved in oxidative-stress response*“ je zaměřena na strukturní studie nově charakterizovaného enzymu podobného flavoproteinům – WrbA.

Předložená disertační práce navazuje na úspěšně obhájenou magisterskou práci studentky v roce 2005. Disertační práce vznikala v rámci vzájemné bilaterální spolupráce JU v ČB se sídlem na Nových Hradech zastoupenou školitelkou studentky a Katedrou biochemie na Universitě v Princetonu, New Jersey (USA), konkrétně se skupinou Prof. Jannette Carey. Vzájemná spolupráce byla navázána v roce 2003 a od roku 2004 pokračuje díky projektům MŠMT Kontakt ME640 a ME09016, které byly a jsou zaměřeny na studium nových proteinů strukturně podobných flavodoxinům. Funkce a působení těchto proteinů nebyly doposud objasněny.

Studentka Julie Wolfová se od počátku zabývala komplexním pohledem na studium WrbA proteinů. Díky několikaměsíčnímu pobytu v laboratoři Doc. Rity Grandori (JKU Linz) se seznámila s metodami molekulární biologie a izolací a purifikací studovaných proteinů. Dále provedla sérii krystalizačních experimentů s použitím komerčně dostupných sad krystalizačních roztoků a také s roztoky připravenými přímo v naší laboratoři. Pro krystalizační experimenty využila standardní i pokročilé krystalizační techniky, našla vhodné podmínky pro krystalizaci apoproteinu a holoproteinu WrbA a připravila krystaly obou forem proteinu, které byly posléze testovány na proteinovém difraktometru na ÚMG AV ČR a měřeny na synchrotronech DESY v Hamburku a ESRF v Grenoblu. Z naměřených difrakčních dat studentka vyřešila struktury studovaných proteinů a deponovala je do PDB. Studentka také analyzovala strukturu purifikovaného proteinu pomocí spektrálních metod a cirkulárního dichroismu, kdy potvrdila, že apoprotein WrbA patří do skupiny α/β proteinů. V průběhu 2měsíčního pobytu na Univerzitě v Princetonu studovala protein WrbA proteolyticky. Ke studiu limitní proteolýzy použila pět enzymů - proteáz s odlišnými štěpíacími preferencemi. Výsledky limitní proteolýzy za použití chymotrypsinového štěpení byly použity ke strukturní analýze proteinu WrbA, kdy byly nalezeny foldované subdomény a popsána flexibilní část proteinu.

Získaná data studentka samostatně zpracovala a popsala v 5 publikacích uveřejněných v renomovaných vědeckých časopisech jako jsou Journal of Crystal Growth, Acta Cryst. F, Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics a Protein Science.



Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Škola komplexních systémů FROV

Zámek 136

373 33 Nové Hradky

DIČ 60076658

Výsledky práce studentka také prezentovala na domácích a mezinárodních konferencích formou posterů a přednášek.

Julie Wolfová pracovala na projektu se zájmem a samostatně. Vysoce oceňuji její snahu o komplexní pohled na řešení problematiky a přístup k získávání informací nezbytných ke studiu a samostatné vědecké práci. Studijní plán studentka splnila bez výhrad, oceňuji její pedagogické aktivity při výuce studentů letních škol, kterých se účastnila několik let. Disertační práce je sepsána na vysoké úrovni s ohledem na ostatní práce obhajované v programu phd studia na JU.

Závěrem mohu jako školitelka konstatovat, že studentka splnila všechny povinné požadavky na řádné ukončení doktorského studia a proto může být její disertační práce doporučena k obhajobě.

Doc. Mgr. Ivana Kutá Smatanová, Ph.D.
školitelka

Doc. Mgr. Ivana Kutá Smatanová, Ph.D.
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Škola komplexních systémů FROV
a
Akademie věd České Republiky
Ústav nanobiologie a strukturní biologie
e-mail: ivanaks@seznam.cz (kuta@frov.jcu.cz)
tel. 608106109