

Posudek školitele na diplomovou práci

školitelský posudek

Jméno školitele:
RNDr. Karolína Buriánková, Ph.D.

Datum:
21.05.2024

Autor:
Bc. Tomáš Beneš

Název práce:
Vztah mezi StkP/PhpP fosforylační dráhou a diadenylátcyklázou CdaA produkující c-di-AMP u *Streptococcus pneumoniae*

Zadané cíle práce, včetně tématu literárního přehledu:

Náplní této diplomové práce bylo osvětlit regulační vztah mezi diadenylátcyklázou CdaA, fosfoglukosaminmutázou GlmM a Ser/Thr kinázou StkP u patogenní bakterie *Streptococcus pneumoniae*. Dílčí cíle zahrnovaly:

- 1) ověření interakcí mezi CdaA a GlmM a otestování interakce s StkP pomocí dvouhybridového systému a koimunoprecipitace,
- 2) studium efektu GlmM a StkP na syntézu c-di-AMP metodou diadenylátcyklázové reakce,
- 3) studium fosforylace CdaA kinázou StkP pomocí radioaktivní kinázové reakce a gelu Phos-Tag,
- 4) ověření esenciality CdaA u *S. pneumoniae*,
- 5) stanovení lokalizace CdaA pomocí fluorescenční mikroskopie.

Předmětem literárního přehledu byl popis základních vlastností *S. pneumoniae*, dále popis role c-di-AMP u bakterií a shrnutí dosavadních poznatků o diadenylátcyklázách a c-di-AMP fosfodiesterázách u bakterií a archeí.

Přístup studenta k práci s literaturou:

Tomáš si zcela samostatně vyhledával literární zdroje a pečlivě s nimi pracoval. V práci je citováno téměř 200 publikací, z nichž většina jsou původní práce. Literární zdroje použité v diplomové práci považuji za dostatečné. Literární přehled navazuje na Tomášovu bakalářskou práci a jeho komplexnost potvrzuje Tomášovu znalost studovaného tématu.

Přístup studenta k práci v laboratoři (přístup při učení se nových metod, aktivita, samostatnost, systematičnost práce i docházky do laboratoře):

Tomáš nastoupil k nám do laboratoře již ve 3. ročníku a během sepisování bakalářské práce se již aktivně zapojoval do práce v laboratoři a učil se potřebným metodám. Brzy prokázal, že je schopen pracovat samostatně a pravidelně docházel do laboratoře a systematicky pracoval na svém tématu. Tomáš je sice spíše uzavřený, ale postupem času se začlenil do kolektivu a stal se plnohodnotným členem naší laboratoře.

Přístup studenta při sepisování práce:

Vzhledem k tomu, že se Tomáš snažil dosáhnout co nejlepších experimentálních výsledků, na sepisování práce měl poněkud omezený čas, ale o to s větším nasazením pracoval. Diplomovou práci sepisoval samostatně a konzultoval text v průběhu psaní.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Domnívám se, že předkládaná diplomová práce je kvalitní a dokazuje, že Tomáš Beneš je nejen zdatný experimentálně, ale že se dobře orientuje ve studované problematice a je schopný dosažené výsledky interpretovat a diskutovat.

Protein diadenylátcyklázu CdaA jsme začali studovat v souvislosti s fosfoglukosaminmutázou GlmM, která je substrátem StkP a nachází se spolu s CdaA ve stejném operonu. Tomášovi se podařilo potvrdit interakci CdaA s GlmM a nově identifikovat interakci s StkP. *In vitro* detekoval fosforylaci CdaA kinázou StkP a detekoval zvýšenou hladinu fosforylace v přítomnosti adaptorového proteinu GpsB. Bylo potvrzeno, že CdaA je esenciálním proteinem a pomocí fluorescenční mikroskopie Tomáš prokázal obohacení CdaA v oblasti septa, což naznačuje možnou roli CdaA v buněčném dělení *S. pneumoniae*. Výsledky Tomášovy práce jsou základem pro další studium regulace syntézy c-di-AMP u *S. pneumoniae*, přispěly k řešení našeho grantového projektu a budou zahrnuty do připravované odborné publikace.

Cíle diplomové práce považuji za splněné a doporučuji tuto práci k přijetí.

Návrh hodnocení školitele:

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis školitele:

