

Posudek oponenta na diplomovou práci

<input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: Petr Jeřábek
	Datum: 24.5.2024
Autor: Aleksandr Melikov	
Název práce: Investigation of HSP70 oligomerization by structural mass spectrometry. Sledování oligomerizace proteinu HSP70 strukturní hmotnostní spektrometrií.	
Cíle práce Cílem předkládané diplomové práce je studium oligomerizace proteinu HSC70, který patří do početné rodiny chaperonů Hsp70. Tento protein se mimo jiné podílí na správném skládání proteinů a zabraňuje jejich agregaci. Dílčí cíle zahrnovaly: 1) expresi a purifikaci rekombinantního HSC70 a jeho mutantních forem (ve formě 14N a 15N) 2) studium ATP-dependentní dimerizace HSC70 metodou hmotnostní fotometrie 3) sběr vzdálenostních restrikcí dimeru pomocí kombinace metod chemického zesílení a hmotnostní spektrometrie 3) konstrukci homologního modelu monomerní divoké formy proteinu HSC70 4) konstrukci modelu dimeru HSC70 pomocí protein-protein dokování	
Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO Rozsah práce (počet stran): 136 Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO Je uveden seznam zkratk? ANO	
Literární přehled: Odpovídá tématu? ANO Je napsán srozumitelně? ANO Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO	
Materiál a metody: Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO Kolik metod bylo použito? 7 Jsou metody srozumitelně popsány? ANO	
Experimentální část: Je vysvětlen cíl experimentů? ANO Je dokumentace výsledků dostatečující? ANO Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO	
Diskuze: Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO	

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO
Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ANO

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Z formálního hlediska je předkládaná práce na velmi dobré úrovni, avšak narazil jsem na několik chyb a nedostatků. Nejvýznamnější z nich jsou shrnuty v následujících bodech:

- V obrázku je 5 je chybně uvedeno označení 6A-6D. V popisku je uvedeno správně.
- Obrázek 17 je chybně očíslován (v popisku je uvedeno 18).
- Tabulka 3 je chybně označena jako tabulka 1. Odkaz v textu je správný.
- Na straně 62 (druhý řádek zdola) věta „... SBD domains with a bound ATP“ by měla být „... SBD domains with a bound ADP“.
- V obrázku 14 je chyba ve větě „...divided by the sum of LL and HL intensities“, mělo by být „...divided by the sum of LL and HH intensities“.
- Na straně 55 jsou, pravděpodobně omylem, uvedeny tři otazníky ve větě „... by syringe injection (4 ml syringe, ???)“.
- Používání dvou různých zkratk pro jednu věc čtenáře může plést (např. označení rodiny proteinů Hsp70/Hsp40).
- Úroveň anglického jazyka je dobrá, avšak časté chyby v užívání určitého a neurčitého členu snižuje čitelnost textu. Uvádění čísel do deseti bych ve většině případů preferoval slovně, neboť to dle mého názoru zlepšuje čitelnost.
- Obecně bych uvítal přehlednější obrázky. Často by pomohlo přesunutí textu z popisku přímo do obrázku. Např. v případě obrázku 21 by k lepší přehlednosti přispělo uvedení identity proteinů přímo v obrázku. Dále bych v obrázku 8 místo legendy, která obsahuje jména jednotlivých domén proteinu, přímo uvedl název jednotlivých domén (místo čísla, které se odkazuje na legendu). V případě obrázku 26, který popisuje jednotlivé typy XL-peptidů, které vznikly pomocí „cross-linkingu“ a následným štěpením proteasou bych zlepšil schématické znázornění. V případě výsledné struktury homologního modelu lidského HSC70 bych namísto všech deseti struktur, které byly získány programem MODELLER, ukázal pouze tu, která byla vybrána jako nejlepší a její obrázek bych ukázal ve větším formátu. Ostatní by mohly být v příloze. Lepší grafickou prezentaci bych uvítal rovněž v případě výsledné dimerní struktury komplexu HSC70 WT, atd.
- Častější nevhodné umístění citací, kdy citace je umístěna až později v textu a ne v místě, kdy je uveden daný fakt. Občas citace buď chybí nebo jsou uvedeny nesprávně (např. nevhodná citace programu ProtParam Expasy).
- Vzhledem k velkému množství dat by mohla být diskuze pro lepší přehlednost rozdělena do podkapitol.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Autor se úspěšně zhostil všech výše uvedených cílů. Práce zahrnuje rozsáhlý soubor experimentů, které jsou nejen početné, ale také velmi komplexní a důkladně provedené a přináší tak nové poznatky do oblasti studia proteinu HSC70. Hlavním výstupem práce byl

návrh struktury dimerní formy proteinu HSC70. Celkově práci hodnotím velmi pozitivně. Množství a kvalita provedených experimentů se blíží úrovni disertační práce.

Otázky a připomínky oponenta:

- 1) Pro konstrukci struktury dimerní formy lidského proteinu HSP70 byl použit server HADDOCK. Do jaké míry je program schopný optimalizovat geometrii vstupních struktur v průběhu dockingu a výsledné struktury?
- 2) Ve výsledkové části na straně 88. se uvádí, že vzdálenostní „restrain“ byl zvolen 30 Å. Můžete vysvětlit proč. Jak dlouhé DSS sondy byly použity. Měly různou délku? V metodické části toto není nijak popsáno.
- 3) V úvodní části se uvádí, že protein NEF usnadňuje ADP/ATP výměnu. Plánujete provést dimerizační experimenty i v přítomnosti tohoto proteinu?

Návrh hodnocení oponenta

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta: