



Posudek oponenta disertační práce

Název: Studium regulace neurálních signálních drah na úrovni proteinů

Autor: Mgr. Jakub Červenka

Oponent: RNDr. Alena Myslivcová Fučíková, Ph.D.

Disertační práce Mgr. Jakuba Červenky je velice příjemným a obohacujícím dílem, které je poměrně široce rozkročeno nad problematikou využití moderních proteomických metod v analýze diferenciačních procesů a na ně navázaných jevů při charakterizaci lidských nervových kmenových buněk v průběhu jejich *in vitro* diferenciaci. Jak autor sám uvádí, jde o téma, které neustále nabírá na důležitosti v souvislosti se vzrůstajícím výskytem rozmanitých neurodegenerativních onemocnění a s tím související potřebě jejich léčebného ovlivnění. Dá se s jistotou říci, že disertační práce autora zásadně přispívá k prohloubení znalostí o této problematice. Kromě obsáhlé experimentální části, týkající se zejména využití proteomických metod, je součástí práce i rešerše týkající se dostupných biomarkerů Huntingtonovy choroby, která vhodným způsobem doplňuje zpracovávanou problematiku.

V práci jsou jasně definovány jednotlivé cíle, které byly prokazatelně naplněny. K řešení výzkumného úkolu byly použity hlavně moderní proteomické metody, zejména pak techniky cílené proteomické analýzy a SWATH-MS analýzy.

Disertační práce má klasický charakter, student v ní zároveň předkládá své publikace, kde je hlavním autorem nebo spoluautorem. Práce jsou publikovány ve velice kvalitních časopisech a je patrné, že student během svého studia plně zvládl zpracovávanou problematiku. V práci je přehledný úvod a velmi pěkně pracovaná teoretická část, která jasně vysvětluje studovanou problematiku, včetně principů použitých proteomických metod. V rozsáhlé výsledkové části jsou pak vhodně popsány jednotlivé kroky a výstupy z dílčích analýz, které jsou shrnuty v diskusi. Ta je zpracována opět nadstandardně pěkně. Práce je psána čtivě, bez větších nejasností nebo překlepů.

Student během své práce získal přehled o současných proteomických metodách a jejich využití v analýze potenciálních proteinových markerů. A nejen to. Z celé práce je patrné, že student poznal a využíval celou řadu dalších metod molekulární biologie.



Z publikačních výstupů a celkového zpracování disertační práce je patrné, že za zvoleným tématem je velmi mnoho odvedené práce. Student prokázal způsobilost k samostatné vědecké práci a získal nové, originální výsledky. Jeho práce obsahuje předeepsané náležitosti a splňuje zákonné podmínky. Práci tedy doporučuji k obhajobě.

Otázky:

1. V práci uvádíte, že studované peptidy pro cílenou analýzu byly vybírány pomocí SRM Atlasu a následně objednány. Zkoušeli jste vybrané peptidy před objednáním najít v nějakých předchozích analýzách vašich vzorků? Jaká byla úspěšnost použití nasyntetizovaných peptidů?
2. U přečištění peptidů pomocí SPE máte uvedenou eluci roztokem 80% AcN. Při vysoké koncentraci AcN mohou být vymývány z kolonek i nežádoucí nečistoty interferující potom s MS analýzou. Zkoušel jste pro eluci použít např. 60% AcN? Byl významný rozdíl v počtu identifikovaných peptidů?
3. Zmiňujete nutnost najít způsob normalizace dat získaných pomocí metody SRM pro klinické využití. Našel jste k této problematice nějaké publikace?
4. Při rešerši týkající se markerů Huntingtonovy choroby bylo Vámi nalezeno větší množství potenciálně slibných proteinů. Jsou nějaké z nich shodné s proteiny, které jste sledoval Vy ve Vaší práci?

V Hradci Králové dne 4. 9. 2024

RNDr. Alena Myslivcová Fučíková, Ph.D.