

Posudek na Diplomovou práci:

Využití H/D výměny ke studiu strukturních změn proteinového komplexu Tomm34 a Hsp70/90

Autor Diplomové práce: Dominika Černá

Oponent: MUDr. Petr Müller, Ph.D.

Masarykův onkologický ústav

Žlutý kopec 7, Brno 65653

Předkládaná diplomová práce s názvem „Využití H/D výměny ke studiu strukturních změn proteinového komplexu Tomm34 a Hsp70/90“ Bc. Dominiky Černé se zabývá studiem mezimolekulárních interakcí proteinu Tomm34 a peptidů odvozených ze sekvence molekulárních chaperonů Hsp70 a Hsp90. K tomuto účelu je využívána pokročilá metodika H/D výměny. Po zvládnutí nezbytných technických a metodických nároků spojených s technikou H/D výměny, přistoupila autorka k interpretační části provedené interakční analýzy. Součástí interpretace byla také bioinformatická analýza struktury proteinu Tomm34. Autorka uvádí tyto závěry: (a) TPR1 a TPR2 domény představují strukturované oblasti proteinu Tomm34, (b) TPR1 i TPR2 interagují s oběma použitými peptidy, (c) mezi TPR1 a TPR2 je lokalizován další strukturovaný region ovlivněný přítomností peptidů.

Z formálního hlediska lze práci označit za přehlednou a dobře zpracovanou včetně rozsáhlého citačního aparátu a seznamu zkratk. Rozsah jednotlivých kapitol je vyvážený. Jazyk práce je střízlivý a dobře pochopitelný. Také obrazový doprovod předložené práce je pečlivě zpracován a doplněn postačujícími legendami.

Po obsahové stránce lze práci hodnotit jako velmi přínosnou a zajímavou. Autorka prokázala orientaci v dané problematice a schopnost jasně formulovat většinu předpokladů a závěrů měření. Autorka s využitím metodiky H/D výměny doložila přítomnost interakce C-terminálních peptidů chaperonů Hsp70/90 s proteinem Tomm34, jehož vazba k těmto proteinům byla doposud nedostatečně strukturně analyzována. Dosažené výsledky tak přispívají k objasnění procesu tvorby Tomm34-Hsp70-Hsp90 multichaperonového komplexu.

Malou výhradu bych vznesl k části „Optimalizace zastavení H/D výměny“, jejíž obsah nepřináší velký vzhled do podstaty této optimalizace a především tato „optimalizace“ není doložena žádným výsledkem prezentovaným například jako graf poklesu pH při titraci glycinu. Takto kapitola tak působí spíše jako popis rutinního postupu.

Otázky k diskusi:

- 1) Autorka v práci několikrát interpretuje výsledky svých měření jako důkaz „interakce“ peptidů s určitým regionem proteinu Tomm34. Jelikož práce neobsahuje doplňkové metody, které by přítomnost „interakce“ v uvedených regionech potvrdily, bylo by lépe formulovat přítomnost změn v deuteraci „jemnějším“ způsobem. Jak by autorka reinterpretovala (reformulovala) závěr o přítomnosti „interakce“ s přihlédnutím k základnímu principu deuteriové výměny?
- 2) Autorka uvádí, že peptidy odvozené z Hsp70/90 „interagují“ s TPR1 a TPR2 doménami s různou specificitou a afinitou. Jaké navrhuje autorka vysvětlení tohoto pozorování s přihlédnutím k tomu, že klíčový motiv EEVD je přítomen v obou peptidech?
- 3) Autorka popisuje, že protein Tomm34 může zastávat obdobnou funkci jako protein HOP při regulaci kooperace chaperonů Hsp70 a Hsp90. Jaký navrhuje autorka mechanismus funkce proteinu Tomm34 v tomto procesu? Do jaké míry mohou být úlohy proteinů Tomm34 a HOP redundantní a jaké autorka předpokládá unikátní funkce těchto proteinů?

Diplomová práce Bc. Dominiky Černé splňuje všechna předepsaná kritéria a stanovené cíle, a proto doporučuji práci k obhajobě a hodnotím známkou: **Výborně**.

V brně 23. května 2014

Petr Müller