



INSTITUTE OF BIOPHYSICS
Czech Academy of Sciences
Královopolská 135, 612 65 Brno, Czech Republic
tel.: +420-541 517 111
fax: +420-541 211 293

Posudek na doktorskou (PhD) disertační práci

Interactions of Proteins with Nucleic Acids: from Structure to Specificity,
Interakce Proteinů s Nukleovými Kyselinami: od Struktury k Specificitě

Mgr. Dávid Jakubec

Úvodem rád konstatuji, že se jedná o **vynikající disertaci**, kterou považuji v českém kontextu za nadprůměrnou a na mezinárodní úrovni. Oceňuji to, že autor zaujímá zdravě kritický postoj k modelovacím metodikám, což je základem k tomu, aby tyto metodiky byly správně používány.

Autor v práci prezentuje celkem 10 článků publikovaných v impaktovaných časopisech, u šesti z nich je prvním (příp. sdíleným prvním) autorem. WOS ukazuje 11 publikací. Nedávná práce Jakubec&Vondrášek JCTC 2019 je např. explicitně citována v práci Yoo et al. Current Opinion Struct. Biol. 64, 2020,88-96 jako práce, která je „of special interest“. Tento názor sdílím jako oponent rovněž.

V úvodu disertační práce autor stručně popisuje funkce a struktury proteinů a nukleových kyselin, experimentální metody studia jejich 3D struktur, význam a mechanismy vazby nukleová kyselina-protein a experimentální metody měření afinity této vazby. Dále se autor stručně věnuje výpočetním metodám používaným pro studium biomolekul - kvantově chemickým a empirickým metodám a MD simulacím. Následuje úvod do výsledkové části a vlastní výsledková část. Ta je dělena na tři celky. V prvním autor představuje šest publikací, ve kterých se pomocí bioinformatických metod a metod výpočetní chemie věnuje geometrii a energetice párových interakcí nukleotid-aminokyselina a vazbě aminokyselin na DNA duplex. Ve druhém celku autor uvádí dva články zaměřené na posouzení vhodnosti výpočetních metod pro studium volných energií vazby DNA-protein. Ve třetím celku, nazvaném Discussion, uvádí autor další dva bioinformatické články, tentokrát zaměřené na evoluci proteinů.

Text disertační práce je řazen logicky s dobrou návazností, obsahuje množství citací na odbornou literaturu a vypovídá o autorově dobrém přehledu o dané tematice. O autorovu nadhledu svědčí i obsáhlé diskuze limitací použitých přístupů a možných rozšíření prací. Výsledky autorovy práce přináší nové, zajímavé poznatky především v oblastech obecné teorie interakcí mezi DNA a proteiny a v oblasti metodologické. O jejich kvalitě vypovídá také jejich publikace v časopisech jako je Journal of Chemical Theory and Computation.

K práci mám pouze několik opravdu drobných připomínek:

Trochu postrádám výpis konkrétních příspěvků autora k daným publikacím - autor sice popisuje výsledky výzkumu, není však zřejmé, jakou měrou se na něm u jaké z prací podílel.

Dále mám výhrady k řazení textu, zejména k zařazení popisu dvou článků do sekce "Discussion", která kromě tohoto popisu neobsahuje další text (čekal bych obecnou diskuzi všech výsledků nebo sekci "Discussion" nezařazoval vůbec). Úvod k sekci "Experimental methods of biomolecular structure determination" se nachází neintuitivně až za podnadpisem "X-ray crystallography" ale patří nad něj, stejná situace je u sekce "Computational approaches to the study of biomolecules" a těsně následujícího podnadpisu "Quantum chemical methods". Ve výsledkové části by bylo vhodné uvést plné citace u každé z prezentovaných prací místo zkrácené verze "Jakubec et al. (2015)". Rovněž mi nepřijde šťastné použití citace formou "Jakubec et al. (2015)" jako nadpisu pro text shrnující daný článek - název článku by byl vhodnějším nadpisem.

Jako nejnovější AMBER proteinový force field v teoretickém úvodu autor uvádí ff14SB, nejnovější verzí je však ff19SB, i když jeho využití je vázáno na OPC vodu, a jeho užití na protein-NA komplexu nebylo zatím nikým testováno.

V tabulce 1 by čísla neměla být zarovnána na střed.

Obecně se v textu místy vyskytují příliš dlouhé věty, které jsou hůře čitelné (například na konci strany 10 je jedna věta na devíti řádcích); na několika místech v textu je omylem tečka uprostřed věty.

Otázky do diskuze:

Jedním ze závěrů práce Hostaš et al. (2015) je, že empirické silové pole výrazně podceňuje stabilizační energie komplexů s nabitými aminokyselinami. Tuší autor proč tomu tak je?

Autor ukazuje, že výpočty pomocí silových polí AMBER i CHARMM přeceňují afinitu vazby DNA-protein oproti experimentálním měřením, míra stabilizace je však pro dva studované systémy v obou silových polích odlišná. Jako důvod rozdílných predikcí mezi oběma silovými poli je uvedena vyšší míra inter- a intramolekulárních kontaktů u silového pole AMBER. V práci byl použit TIP3P model vody. Dokázal by autor odhadnout, jak by se změnila predikce vazebných energií s použitím modelů vod, které tvorbu inter- a intramolekulárních vazeb oproti TIP3P potlačují (například OPC nebo TIP4P-D vody)?

Součástí práce jsou dva webové nástroje - jeden pro analýzu párových interakcí mezi residui a druhý pro analýzu sekvenční konzervovanosti proteinů. Jak moc jsou tyto nástroje vědeckou komunitou využívány?

Mohl by autor velmi stručně shrnout svoje příspěvky ke každé z diskutovaných publikací?

Závěr: výborná disertace, která si zaslouží nejvyšší možné hodnocení. Jednoznačně doporučuji k obhajobě.

V Brně dne 7. 8. 2020


Prof. RNDr. Jiří Šponer, DrSc