

Oponentský posudek disertační práce

Autor: **Mgr. Daniel Kavan**

Název: **Studies of NK cell receptors and other proteins using recombinant expressions and mass spectrometry**

Studium úlohy různých bílkovin (zde hlavně CD69) v protirakovinné imunitě je v současné době velmi důležité pro objasnění procesů zde probíhajících. Autor předkládané disertační práce se ve svém výzkumu zabýval přípravou rekombinantní bílkoviny CD69 v prokaryontním systému, která byla dále studována z hlediska správných renaturačních podmínek. Připravená bílkovina byla charakterizována několika metodami, včetně aplikace nového protokolu umožňujícího určit polohy disulfidických můstků v renaturované bílkovině a určení správnosti a stability nově vzniklé konformace. Autor se též zabývá vývojem a úpravami softwareových nástrojů pro umožnění a usnadnění zpracování experimentálních dat.

K předkládané práci mám následující připomínky, resp. dotazy:

- práce obsahuje minimum překlepů (např. str. 19, ř. 30: dillute → dilute)
- kapitola reference: názvy časopisů neobsahují tečky za zkrácenými slovy
- kapitola výsledky by si zasloužila podrobnější a ucelenější rozepsání a výtisky publikací by bylo vhodné vložit do práce jako přílohy
- je možné, aby se daná bílkovina za konkrétních (ale přitom nesprávných) podmínek poskládal do jiné (pevně definované) konformace, která se výrazně liší od nativního stavu této bílkoviny? Mohou se nesprávným způsobem např. přeskládat disulfidické můstky?
- str. 24 a dále: kapitola o bioinformatice vzbuzuje mylný dojem, že bioinformatika jako obor slouží k urychlení přístupu k obecným datům
- bylo by možné modifikovat algoritmus pro určení míry záměny amidických vodíků za deuteria tak, aby se dal použít i na MSMS data, odkud by bylo možné např. lokalizovat aminokyseliny s největším rozsahem H/D výměny?
- můžete podrobněji popsat nový způsob určování polohy disulfidických můstků pomocí pepsinolýzy a isotopu ^{34}S (str. 104)?
- jaké jsou další plány ve vývoji software mMass?

Uvedené připomínky nikterak nesnižují hodnotu předkládané práce, která je na velmi dobré úrovni. Téma práce je v současné době aktuální a práce jednoznačně splnila sledovaný cíl. Původní výsledky diskutované v práci jsou publikované v mezinárodně uznávaných časopisech a podle § 47 VŠ zákona 111/98 Sb. splňuje požadavky kladené na disertační práci. Autor jednoznačně prokázal tvůrčí schopnosti pro samostatnou vědeckou práci (podpořené výraznou publikační aktivitou) a proto **doporučuji předloženou disertační práci k obhajobě.**

V Hradci Králové dne 16.6.2010

.....
RNDr. Pavel Řehulka, Ph.D.
Ústav molekulární patologie FVZ UO
Třebešská 1575
500 01 Hradec Králové