

Oponentský posudek

na doktorskou disertační práci Mgr. Kateřiny Pavláskové nazvanou: „Hmotnostní spektrometrie v protetice: strukturní biologie a klinické aplikace.“

Ve své doktorské disertační práci se Mgr. Kateřina Pavlásková zabývá různými technikami hmotnostní spektrometrie. Hlavní pozornost je věnována studiu terciární struktury a protein-proteinových interakcí pomocí metody chemického zesílení s MS analýzou. První část práce obsahuje teoretický úvod, který charakterizuje principy použitých metod a modelových systémů. Druhá část práce se sestává ze separátů 5 publikací a 2 manuskriptů na diskutované téma. Výsledky jsou diskutovány v rámci tří částí. V první části práce se Mgr. Kateřina Pavlásková zaměřila na mapování interakcí u tří modelových systémů: v homodimeru lidského proteinu 14-3-3 zeta, komplexu proteinu 14-3-3 zeta s regulační doménou tyrosinhydroxylasy a systému dvou membránových proteinů cytochromu P450 2B4 a cytochromu b5. V druhé části práce byly pomocí MS studovány proteinové profily houbových spór kmenů *Aspergillus* a *Pseudallescheria*. Třetí část práce představuje MS přístupy použité při řešení několika konkrétních protetických a lipidomických projektů.

Práce Mgr. Kateřina Pavláskové ukázala, že techniky síťovacích reakcí s následnou MS analýzou jsou vhodnými nástroji ke studiu protein-proteinových interakcí, která může ukázat přítomnost solných můstků, možnou prostorovou orientaci dvou proteinů či přesně identifikovat, které aminokyseliny se účastní interakce dvou proteinů. Získané informace mohou být využity i pro *in silico* modelování interakcí v komplexu dvou proteinů. Mgr. Kateřina Pavlásková dále předvedla, že metoda MALDI-TOF MS poskytne během několika minut informaci o stavu proteomu za použití malého množství vzorku a může účinněji doplnit či nahradit klasické metody jako např. 1D elektroforézu, která vyžaduje větší množství materiálu a trvá včetně vizualizace elektroforegramu podstatně déle. Dále byly pomocí techniky peptidového mapování PMF identifikovány nové alergeny v pšenici.

Předložená doktorská disertační práce také představuje, unikátní a elegantní metodu na určování polohy dvojně vazby v molekule analytu pomocí oxidace během NALDI MS.

Mgr. Kateřina Pavlásková je autorkou 5 publikací (první autorkou 2 publikací) otištěných v kvalitních mezinárodních časopisech. Zvláště bych vyzdvihla publikaci v časopise *Analytical Chemistry* s IF 5.8. Součástí doktorské disertace jsou i dva manuskripty publikací, odeslaných do tisku (na obou z nich je Mgr. Pavlásková první autorkou nebo má

sdílené první autorství). Práce je psána česky, formální úroveň a grafické zpracování je vynikající.

K problematice diskutované v doktorské disertační práci mám pouze tři drobné dotazy:

1. Při studiu dimeru 14-3-3 proteinu jste pro chemické zesíťování používala činidlo karbodiimid EDC. Proč jste si vybrala právě toto činidlo a proč nebyla použita i jiná crosslinkační činidla např. DSS, DSG či DTSSP?
2. Proč jste si pro predikci interakce cytochromu P450 2B4 s cytochromem b5 vybrala právě program HADDOCK?
3. Mohla byste stručně shrnout hlavní výhody metody H/D výměny při studiu protein-proteinových interakcí a srovnat ji s jinými metodami?

Závěrem konstatuji:

Předložená doktorská disertační práce Mgr. Kateřiny Pavláskové představuje cenný přínos pro rozvoj hmotnostní spektrometrie v proteomice a strukturní biologii. Práce je psána srozumitelně, pečlivě, výsledky byly publikovány v kvalitních mezinárodních časopisech. Autorka ve své disertační práci dokázala, že je vyspělým vědeckým pracovníkem, schopným samostatné výzkumné práce.

Jelikož předložená práce Mgr. Kateřiny Pavláskové více než vyhovuje všem požadavkům kladeným na doktorskou disertační práci, plně ji doporučuji k přijetí.

Praha 1. září 2011

RNDr. Veronika Obšilová, PhD.
Fyziologický ústav, AV ČR, v.v.i.