

Autor: Bc. Ondřej Kraus

Diplomová práce: Existují sekvenční determinanty funkční divergence GTPáz?

Školitel: Mgr. Marian Novotný, PhD.

Posudek školitele:

Ondřej Kraus se mnou začal spolupracovat už během bakalářského studia a nakonec pod mým dohledem na druhý pokus i obhájil bakalářskou práci na téma predikce sekundární struktury. Téma mělo být přípravou pro diplomovou práci, ve které jsme předpokládali intenzivní využívání nástrojů pro predikci sekundární struktury. V průběhu času se však ukázalo, že predikci sekundární struktury prakticky nebude využívat, přestože základní téma zůstalo stejné.

Tématem Ondřejovi diplomové práce bylo bioinformatické zkoumání fascinujícího fenoménu (alespoň pro mě), kdy jedna skupina proteinů (v Ondřejově případě skupina malých GTPáz) s velmi dobře konzervovanou strukturou, která není nadaná žádnou enzymatickou aktivitou, může v buňce zastávat tak rozdílné funkce jako regulace cytoskeletu, jaderný transport a tvorba transportních váčků. Mutace jedné podrodiny těchto proteinů se velmi často vyskytují v nádorově-zvrhnutých buňkách. Malé Gtpázy mají nejenom velmi dobře konzervovanou strukturu, ale velmi charakteristickým a konzervovaným způsobem reagují na vazbu GTP. Hlavním cílem Ondřejovy práce tedy bylo se pokusit nalézt v sekvenci specifické aminokyseliny, které jsou zodpovědné za specifické funkční zapojení pěti dobře popsanych podrodin malých GTPáz – Ras, Rho, Rab, Arf a Ran.

Další cíl Ondřejovy práce vyplynul až během práce a byl částečně inspirován přednáškou Dr. Schneidera z Biotechnologického ústavu AV, který využívá teplotní faktory, jednu z charakteristik atomů definovaných při určování 3D struktury proteinů pomocí rentgenové krystalografie, pro popis DNA-vazebných proteinů. Práce na prvním cíli Ondřeje vedla k získání všech dosud známých 3D struktur malých GTPáz, a proto jsme se rozhodli pilotně ověřit, zda by bylo možné získat nějakou informaci o síle vazby nukleotidů v jednotlivých podrodinách malých GTPáz z dostupných teplotních faktorů ve známých strukturách malých GTPáz. Když jsem tuto myšlenku nadhodil svému školiteli Gerardu Kleywegtovi, který je nyní zodpovědný za evropskou strukturální databázi na Evropském bioinformatickém institutu, tak mi odepsal: *I think there are reasons to expect it won't correlate (but you don't know until you try!.*

Ondřej tedy zkusil zjistit, zda má smysl se zabývat teplotními faktory v souvislosti se silou vazby.

Narazili jsme však na problem a zároveň motivaci k další práci a to, že nejsou dostupná data o experimentálně měřených silách vazby nukleotidů a malých GTPáz.

Bioinformatika, jak již z názvu vyplývá, je interdisciplinární obor a proto Ondřej věnoval velké úsilí během magisterského studia získání znalostí a dovedností z informatiky a především programování, které nejsou součástí biologického studijního programu. Ondřej pokročil natolik, že byl schopen sám napsat užitečný program v jazyce Java, který nám umožnil provést úvodní

analýzu teplotních faktorů. Při práci na prvním cíli se seznámil s prostředím Matlab a jeho pokročilými moduly a to opět tak, že byl schopen upravovat programy pro své specifické potřeby. V neposlední řadě pracoval i s programovacím jazykem R, který se využívá při statických analýzách dat.

Pro plánované experimenty byl zcela klíčovým a zároveň nejobtížnějším krokem výběr vhodných dat. Ondřej této části věnoval velkou pozornost a jeho biologické vzdělání bylo pro tuto, nebojím se říci, mravenčí práci výborný předpokladem. Přesto se mi zdálo, že mohlo být v oblasti výběru dat uděláno mravenčí práce víc. Stejný dojem, a to je má hlavní výtka k předkládané práci, jsem měl z Ondřeje i v oblasti interpretace získaných dat. Ondřeje mnohem víc bavilo programovat a provádět analýzy než je pak kriticky hodnotit, do čehož jsem jej musel skoro nutit. Ondřej zřejmě více tíhne k informatické části slova bioinformatika.

Získané výsledky v obou hlavních vytčených cílech však považuji za velmi zajímavé a hodné dalšího rozvíjení, což lze dle mého skromného úsudku hodnotit jako úspěch práce i studenta. Především výsledky z teplotními faktory jsou optimističtější než odhad mého školitele a naznačují, že alespoň relativní hodnoty síly vazby půjde ze srovnání teplotních faktorů získat. K sepisování práce přistoupil Ondřej svědomitě, ale i tak vzniklo na cestě k finální práci mnoho verzí, které směřovali k lepší struktuře, srozumitelnosti a interpretaci použitých dat. Ondřej však ve srovnání s bakalářskou prací zaznamenal v sepisování velký pokrok.

Celkově velmi vysoko hodnotím Ondřejovu chuť se ponořit do oblasti programování a zvládnout několik programovacích jazyků, která nám umožnila studovat výše předestřenou tematiku. Méně jsem byl spokojený s biologickou částí problematiky a to hlavně s interpretací získaných dat. Přesto jsem však přesvědčen, že Ondřej ve všech oblastech splňuje požadavky kladené na diplomovou práci a vzhledem k předloženým výtkám navrhuji známku velmi dobře.

V Praze. 16.9. 2013