

Posudek na dizertační práci „Studium úlohy proteinů 14-3-3 v regulaci G-proteinové signalizace“

Předkladatelka: Mgr. Lenka Řežábková

Školitel: doc. Tomáš Obšil, PhD

Předkládaná dizertační práce je souhrnem čtyř rukopisů, které byly otištěny v mezinárodních recenzovaných časopisech. U třech publikací je kandidátka prvním autorem, ke čtvrté pak přispěla ultracentrifugační analýzou a vyhodnocením získaných dat. Společným jmenovatelem zmiňovaných prací jsou studie zaměřené na mapování interakcí proteinů 14-3-3 s regulátory G-proteinové signalizace (fosducin, RGS3). Jelikož G-proteiny hrají nezastupitelnou úlohu v celé řadě fyziologických procesů, je toto téma velmi aktuální a získané informace bezesporu jsou a budou přínosné pro širší vědeckou komunitu. Při absenci krystalové nebo NMR struktury komplexů proteinů 14-3-3 se ve své práci kandidátka zaměřila fyzikálně-chemické metody, které umožňují mapovat protein-proteinové interakce.

Mimo čtyř publikací, které jsou součástí předkládané práce, je Mgr. Řežábková spoluautorkou na dalších třech publikacích a tato vysoká publikační aktivita podtrhuje vysokou kvalitu jak kandidátky, tak laboratoře školitele. Stejně tak předložená dizertační práce dokumentuje široký rozsah experimentálních technik, které si kandidátka během svého magisterského/doktorandského studia osvojila. Tyto zahrnují metody molekulární biologie (klonování, exprese a mutageneze), purifikaci a charakterizaci rekombinantních proteinů a v neposlední řadě sofistikované fyzikálně-chemické techniky (časově-rozlišená fluorescence, analytická ultracentrifugace, SAXS).

Skutečnost, že experimentální postupy, získaná data i jejich interpretace již prošly recenzním řízením v mezinárodních časopisech zjednodušuje oponenturu, jelikož by bylo zbytečné znovu analyzovat data přijatá vědeckou komunitou. Z tohoto důvodu bych se omezil na dva „teroretické“ dotazy:

1. Předpokládám, že ideálním výsledkem práce by bylo vyřešit krystalové nebo NMR struktury daných komplexů, které by poskytly detailnější obraz intermolekulárních interakcí. Jaké experimenty byly v tomto směru provedeny a s jakými výsledky?

2. V pracech byly použity dvě „komplementární“ techniky pro popis interkací protein-protein, a to časově rozlišená fluorescence a SAXS. Může kandidátka stručně popsat praktické aspekty těchto technik a jejich výhody/limitace?

Závěrem lze konstatovat, že předkládaná dizertační práce splňuje všechny požadavky oborové rady fyzikální chemie a proto ji doporučuji k obhajobě. Současně přeji Mgr. Lence Řežábkové hodně úspěchů v dalším profesním i osobním životě.

V Praze, 22. listopadu, 2012

RNDr. Cyril Bařinka, PhD