

**Autor: Bc. Iveta Peclinovská**

**Diplomová práce: Strukturně a sekvenčně závislá identifikace funkčně významných aminokyselin v proteinové rodině malých GTPáz**

**Školitel: Mgr. Marian Novotný, PhD.**

Posudek školitele:

Předkládaná práce Ivety Peclinovské úzce navazuje a dále rozvíjí dřívější práci Ondřeje Krause, který se studiem malých GTPáz v laboratoři začal. V jeho práci jsme však i díky oponentovi diplomové práce objevili nepřesnosti, a tak jsme se rozhodli věnovat tématice znovu prakticky od začátku a tohoto úkolu se zhostila Iveta.

Iveta studovala ve své práci velkou převážně eukaryotickou rodinu malých GTPáz, která je intenzivně studována, jak pro své funkční zapojení do širokého spektra buněčných procesů, tak z hlediska evoluce proteinové rodiny. Nás na této rodině fascinuje skutečnost, že jsou si všechny malé GTPázy velmi podobné – strukturní biologové rádi vysvětlují rozdílné funkce proteinů na základě rozdílných tvarů – rodina malých GTPáz je však šak z tohoto pohledu obtížným oříškem, protože rozdíly tvarů je těžké najít, i když se cvičené oko snaží. Jak je pak možné, že Ras neinterferuje s dráhami Rho, jak odliší interakční partneři rab proteinů Rab od Arf?

Moderní analýzy sekvencí umí na základě poronání velkého množství sekvencí relativně spolehlivě říci, zda spadá vybraná sekvence spíše do rodiny Arf či jde spíše o Rab. Tyhle metody však neumí označit co dělá Arf Arfem a Rab Rabem. Cílem Ivetiny diplomové práce tedy bylo pokusit se zodpovědět výše položené otázky – nalézt postupy, které mohou identifikovat aminokyseliny či kombinace aminokyselin, které mohou definovat jednotlivé funkční podrodiny v rámci malých GTPáz. Iveta se také pokusila vyzkoušet, zda lze popsání postupy použít i pro ještě jemnější třídění a to na příkladu podrodiny Rho, která se skládá ze tří funkčně odlišných skupin – proteinů Rho, Rac a Cdc42. Popsané postupy jsou však velmi obecné a mohou být použity na jakoukoliv proteinovou rodinu či její část – rodina malých GTPáz je biologicky nesmírně zajímavý objekt zkoumání, ale z hlediska předkládané práce jde o modelový příklad.

Práce Ondřeje Krause trpěla nesrovnalostmi především ve sběru a výběru dat, které mohly mít vliv na výsledky, a proto Iveta začínala úplně od začátku zcela novým sběrem dat. Této nepříliš vzrušující části se Iveta po mém soudu věnovala s patřičnou pečlivostí, věnovala jí obrovské množství času, nalezená data kontrolovala, aby dále mohla pracovat s kvalitními daty.

K nalezení funkčně významných aminokyselin Iveta použila tři přístupy, které kombinují využití sekvenčních a strukturních charakteristik proteinů. Dva z těchto přístupů, programy Consurf a Sca5 jsou založeny na kvalitních sekvenčních porovnáních (alignmentech). Kvalita alignmentů je však z alignmentů těžko zjištělná, a proto Iveta věnovala velkou pozornost i pečlivému výběru finálních alignmentů na základě dvou metrik a zde vidím jednu z předností předkládané práce.

Iveta nově použila i program P2rank, který vyvinuli naši kolegové z MFF a poskytli nám jej k testování na biologicky relevantním problému. Program byl však vyvinut až v průběhu letošního roku a Iveta tak neměla dostatek času

program řádně otestovat, i tak narazila při jeho používání na nedokonalosti programu, které předkládala autorům k řešení. Předkládané výsledky jsou tedy jen předběžně, naznačují však potenciál této metody.

Iveta zvládla práci se všemi popsány programy a hodně práce odvedla i na polu vizualizace získaných dat a to jak v grafických programech tak v zobrazování sekvenčních výsledků v alignmentech. Iveta vždy svědomitě plnila zadané úkoly, ale ocenil bych více iniciativy při uchopení a rozvíjení předloženého problému. Nedostatky spatřuji také v interpretaci získaných dat – Iveta nevyužila potenciál získaných výsledků k biologické interpretaci a nalezení významu identifikovaných aminokyselin.

Samotnou diplomovou práci Iveta zprvu zpracovávala velmi samostatně, vytvořila kostru a napsala většinu kapitol. Poté co jsem začal práci připomínkovat se práce trochu zadržela, ale přesto Iveta plnila dohodnuté termíny, a postupem času se i zlepšovala v jednoznačnosti a srozumitelnosti textu. Text je doplněn velkou řadou obrázků a tabulek, které vhodně doplňují text.

V rámci své diplomové práce Iveta zvládla celou řadu bioinformatických metod, ověřila, že lze použít předkládaný postup i pro menší proteinové rodiny a pomohla otestovat slibný program P2Rank, naopak však plně nevyužila plně získané výsledky k bližšímu popisu nalezených aminokyselin.

Předkládaná práce však po mém soudu splňuje požadavky na diplomovou práci a navrhuji ji hodnotit velmi dobře.

V Praze 15.9. 2015

Mgr. Marian Novotný, PhD.