

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky : Bc. Jakub HEJDÁNEK

Název práce:

Identification of small compounds disrupting protein-protein interaction in influenza A polymerase.

A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce (označte právě jednu z možností)

1. Rozsah DP a její členění	
X	A - přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí
	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
	N - nedostatečné

2. Odborná správnost	
X	A - výborná, bez závažnějších připomínek
	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
	C - uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami
	N - nevyhovující, s hrubými chybami

3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů	
X	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
	B - uspokojivé, s občasnými neobratnostmi zejm. v umístění odkazů, nebo s celkově nižším počtem citací
	C - s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, přednášky, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat
	N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)

4. Jazyk práce	
X	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
	C - uspokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

5. Formální a grafická úroveň práce	
X	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo četnějšími drobnými chybami
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

Hlavním tématem diplomové práce Bc. Jakuba Hejdánka bylo vypracování metody umožňující hledání inhibitorů protein-proteinové interakce (PPI) C-terminální domény PA (CPA) podjednotky s podjednotkou PB1 polymerasy viru chřipky. Inhibice této PPI nabízí nové perspektivní možnosti léčby chřipky. Diplomant připravil dvě varianty CPA, jeden z těchto proteinů byl využit pro testování vazby peptidů odvozených od podjednotky PB1. Druhý CPA konstrukt byl použit pro krystalizaci komplexu CPA proteinu s vybraným PB1 peptidem, což následně vedlo k úspěšnému vyřešení jeho struktury. Klíčovým výsledkem práce je vypracování metody pro tzv. high-throughput screening možných inhibitorů interakce mezi CPA a PB1. Kvalita této metody byla testována pomocí série peptidů odvozených od podjednotky PB1.

Po formální stránce je práce sepsána pečlivě, výskyt překlepů je minimální. Jedná se o velmi zdařilou diplomovou práci s řadou zajímavých výsledků. Práce ukazuje, že diplomant si osvojil řadu metod proteinové biochemie, biofyzikální charakterizace protein-proteinových interakcí a krystalizace proteinů.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

1. Spíše komentář - Na straně 33 uvádíte, že v případě protein-proteinových interakcí neexistuje jasná korelace mezi velikostí vazebného povrchu a vazebnou afinitou. S tím lze souhlasit, zejména v případě flexibilních systémů, ale obecně přece jen existuje jistá korelace mezi velikostí tzv. pohřbeného interakčního povrchu a vazebnou afinitou, viz např. Chen et al., Protein Sci. 2013 Apr; 22(4): 510–515., nebo Kastiris and Bonvin, J R Soc Interface. 2013 Feb 6; 10(79): 20120835.
2. Odstranění Val na N-konci PB1 peptidu mělo velký efekt na vazebnou afinitu vůči CPA (rozdíl mezi peptidy PB1-7 a PB1-8 na Obr. 35 na str. 75). Lze tento efekt vysvětlit na základě struktury komplexu? Nejedná se o efekt destabilizace helixu v důsledku zkracování peptidu?
3. Jaký byl důvod pro mutace při návrhu peptidu PB1-11 (proč právě mutace V/Y a T/Y)?
4. V diskusi na str. 84 uvádíte, že interakce pozorované ve struktuře komplexu CPA s peptidem PB1-11 plánujete využít pro budoucí design inhibitorů. Znamená to, že v rámci tohoto projektu bude hlavní pozornost věnována spíše vývoji peptidomimetik či proteomimetik než na hledání inhibitorů na bázi malých molekul?
5. Jaká je sekvenční konzervovanost N-konce podjednotky PB1 a příslušného vazebného místa na C-konci PA podjednotky? Nebude i v tomto případě hrozit rychlý vznik rezistence v důsledku mutací v těchto oblastech?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **NENÍ** podmínkou přijetí práce

C. Celkový návrh

Navrhovaná celková klasifikace: výborně

Datum vypracování posudku: 10.5. 2018

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): prof. RNDr. Tomáš Obšil, Ph.D.