

Oponentský posudek disertační práce

Obor: P1406 Biochemistry

Student: Mgr. Ivo Chamrád

Název práce: Affinity chromatography in proteomics

Oponent: doc. Mgr. Jan Havliš, Dr.

Pracoviště:

Masarykova univerzita, Středoevropský technologický institut, Mendelovo centrum genomiky a proteomiky rostlin, Proteomika CF

Posudek:

Anglicky psaná dizertační práce Mgr. Ivo Chamráda *Affinity chromatography in proteomics* je složená ze tří základních částí - úvodu (kap. 1 a 2), prezentace výsledků (kap. 3 a 4) a závěrů.

Úvodní část obsahuje obecný úvod do historie proteomiky a specializovanou část zaměřenou na aplikaci afinitních separací v proteomice. Shrnutí historie proteomiky, alespoň co může oponent posoudit podle částí zahrnujících jeho specializaci, doktorand pojednal zajímavě a přiměřeně stručně a informativně. Část o aplikaci afinitních separací v proteomice je skvěle a aktuálně zpracovaným přehledem jakých je málo (poslední publikovaná pochází z roku 2008).

Výsledková část obsahuje dvě podčásti – jednu již publikovanou práci a druhou práci v recenzním řízení. Obě podčásti obsahují kompletní popis práce a jako přílohu v prvním případě kopii publikace a v druhém případě manuskript. První práce pojednává metodě mikroafinitní purifikace trypsinu pro proteomické účely. Toto praktické téma je zpracováno velmi dobře, čemuž odpovídá úspěšné umístění publikace do časopisu *Journal of Proteomics* ($IF_{2010} = 5.074$).

Druhá práce, z oboru chemické proteomiky, tematicky i vědecky zajímavější, je zamýšlena pro jiný, stejně prestižní časopis *Journal of Proteome Research* ($IF_{2010} = 5.460$). Studie názorně ukazuje využití nástrojů chemické proteomiky při výzkumu interakcí proteinů s nízkomolekulárními neproteinovými, tzv. chemickými, interakčními partnery. Jako cíl si autoři vybrali afinitní hledání proteinů, jež interagují s analogem cytokininů N^6 -benzylaminopurinem a vyhodnocení poměru jejich obsahu a biologické relevance z míry sekvenční homologie. Práce je z hlediska afinitního obohacení a metodického výzkumu přidružených separačních technik velmi dobrá, spíše doplňkové části relativní kvantifikace obsahu a sledování biologické relevance by snesly hlubší zpracování, byť je jasné, že pro demonstraci vhodnosti metody v tomto oboru jsou okrajové.

Dizertační práci uzavírá shrnutí závěrů tématu i obou prací a následují obsáhlá použitá literatura a výčet autorových vědeckých prací a profesní životopis.

Téma doktorské dizertační práce považuji za aktuální jak z pohledu metodického, tak i bioanalytického. Obě zmíněné práce přinášejí nové postupy a poznatky, které rozšiřují možnosti proteomické analýzy.

K textu práce oponent žádné zásadní připomínky nemá. Práce je sepsána dobrou angličtinou, nakolik to může přirozený mluvčí jiného jazyka posoudit, věcně a přehledně.

Dotazy:

1) Jaká je praktičnost postupu mikroafinitního přečištění trypsinu v proteomickém výzkumu? V jaké části procesu přípravy enzymu má purifikace proběhnout, stačí to už na straně výrobce před lyofilizací, nebo až u koncového uživatele?

2) Bylo by možné afinitní metody separace využít k vytvoření nějaké konstruované formy proteolytického enzymu, nějakého „minimálního“ trypsinu, který by stále disponoval příslušnou tryptickou aktivitou, ale měl minimální velikost a maximální termostabilitu i odolnost vůči autoproteolýze?

3) Absence praktických metod vyhodnocení relevance nálezů je především morem expresní proteomiky. Nejenomže často vidíme jen zanedbatelnou část exprimovaného proteomu, často pozorované proteiny a změny jejich obsahu jsou irrelevantní studovanému problému. Chemická proteomika musí čelit stejným problémům. Existují nějaké metodicky dostatečné nástroje, které by byly schopny užitečně zhodnotit relevanci, nalezených interakčních partnerů?

Doktorand prokázal schopnost samostatné a tvůrčí vědecké práce. Předložená práce splňuje požadavky kladené na disertační práci v oboru Biochemie a dle § 47 VŠ zákona 111/98 Sb. doporučuji práci k obhajobě.

V Brně dne 1. 3. 2012
vypracoval Jan Havliš

