

Posudek práce

předložené na Přírodovědecké fakultě JU

- posudek vedoucího posudek oponenta
 bakalářské práce diplomové práce

Autor/ka: Martina Matěnová
Název práce:
Studijní program a obor: Biofyzika
Rok odevzdání: 2011

Jméno a tituly vedoucího/oponenta: Mgr. Michal Kutý, PhD.
Pracoviště: Ústav fyzikální biologie JU
Kontaktní e-mail: kuty@ufb.jcu.cz

Odborná úroveň práce:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Věcné chyby:

- téměř žádné vzhledem k rozsahu přiměřený počet méně podstatné četné závažné

Výsledky:

- originální původní i převzaté netriviální kompilace citované z literatury opsané

Rozsah práce:

- veliký standardní dostatečný nedostatečný

Grafická, jazyková a formální úroveň:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Tiskové chyby:

- téměř žádné vzhledem k rozsahu a tématu přiměřený počet četné

Celková úroveň práce:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Slovní vyjádření, komentáře a připomínky vedoucího/oponenta:

Předložená diplomová práce se zabývá aplikací moderních výpočetních a experimentálních metod na studium membránových proteinů kyslík vyvíjejícího komplexu fotosystému II (PSII). Cílem teoretické studie bylo sestavit modely dvou úseků proteinových podjednotek D1 a D2 v sinicovém PSII a studovat interakce alfa šroubovic molekulárně dynamickými simulacemi. Role studovaných aminokyselin pak měla být experimentálně ověřena na mutantních strukturách dynamickou silovou spektroskopií AFM.

Práce v celkovém rozsahu 51 stran je členěna na standardní části, kde oceňuji přehlednou úvodní část s popisem aplikovaných teoretických i experimentálních metod. Diplomová práce obsahuje minimum tiskových a grafických chyb.

K práci bych uvedl následující komentář: Molekulárně dynamická simulace studovaných transmembránových úseků proteinů D1 a D2 probíhala ve vodném prostředí, které je pro membránový protein nevhodné, na což ostatně poukazuje v diskuzi i autorka práce a tento fakt ospravedlňuje tím, že klíčové interakce mezi proteiny nebyly vodným prostředím v průběhu simulace poznamenány, jak prokazují výsledná četnost, energie a délka vodíkových vazeb mezi studovanými helixy. Toto tvrzení sice může podpořit uvedenou hypotézu o klíčové roli interagujících aminokyselin na 288. pozici proteinu D1, nicméně nelze přehlížet i autorkou zmiňovaný fakt, že po průběhu simulací a stejně tak i v experimentálním provedení uvedené hydrofobní proteiny ztratily charakter alfa šroubovice a došlo u nich k prostorovým deformacím. Toto tvrzení by určitě dobře popsala, a to i na kvantitativní úrovni komplexní analýza dynamické studie. Pro validaci dynamické studie je nezbytné zahrnout a zveřejnit standardní analýzu celého studovaného molekulárního systému, jako je např. analýza RMSd, výpočet průměrné struktury, a také její grafické vyobrazení, které v práci postrádám. Domníván se také, že pro přesnější popis interakce proteinových podjednotek je nezbytné zahrnout i ostatní úseky D1 a D2 proteinů, které se vzájemně ovlivňují – přitahují na mnoha jiných místech a dále je třeba zahrnout velmi blízké molekuly chlorofylu reakčního centra PSII.

Z uvedených důvodů se domnívám, že tyto konkrétní nedostatky by byly obtížně akceptovány a publikovány v odborném časopise a doporučuji studovaný molekulární systém rozšířit a také studovat v prostředí, které je svými fyzikálně-chemickými vlastnostmi podobné thylakoidní membráně.

I přes výše uvedené nedostatky význam diplomové práce spatřuji v aplikaci širokého spektra výpočetních i experimentálních metod, jmenovitě modelování molekul, energetické optimalizace a simulace, metody cirkulárního dichroismu a silové spektroskopie. Uvedená práce dosud nebyla publikována v odborné literatuře, nicméně lze konstatovat, že studentka obohatila výzkum na pracovišti, jež se dlouhodobě zabývá výzkumem fotosyntézy, o nové teoretické a experimentální přístupy a prokázala schopnost samostatně pracovat na vědecko-výzkumném projektu.

Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:

1. Byla provedena dodatečná parametrizace silového pole YAMBER3 pro případné nestandardní vazby a byly provedeny nějaké strukturní restraints na mebránových proteinech?
2. Je možné alespoň dodatečně demonstrovat strukturní analýzu RMSd a výsledný model obou studovaných proteinů po simulaci?
3. Jaká je časová a hardware náročnost uvedených výpočetních metod, především u dynamické studie?

Práci

doporučuji

nedoporučuji

uznat jako diplomovou/bakalářskou.

Navrhuji hodnocení stupněm:

výborně velmi dobře dobře neprospěl/a

Místo, datum a podpis vedoucího/oponenta:

V Českých Budějovicích, 20. 5. 2011



Posudek práce

předložené na Přírodovědecké fakultě JU

- posudek vedoucího
 bakalářské práce
- posudek oponenta
 diplomové práce

Autorka: **Martina Matěnová**

Název práce: **Studium interakce membránových proteinů na molekulární úrovni pomocí silové spektroskopie, optické spektroskopie a metod výpočetní biochemie**

Studijní program a obor: Biofyzika

Rok odevzdání: 2011

Jméno a tituly vedoucího/oponenta: **RNDr. Milan Předota, Ph.D.**

Pracoviště: Ústav fyziky a biofyziky PřF JU

Kontaktní e-mail: predota@prf.jcu.cz

Odborná úroveň práce:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Věcné chyby:

- téměř žádné vzhledem k rozsahu přiměřený počet méně podstatné četné závažné

Výsledky:

- originální původní i převzaté netriviální kompilace citované z literatury opsané

Rozsah práce:

- veliký standardní dostatečný nedostatečný

Grafická, jazyková a formální úroveň:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Tiskové chyby:

- téměř žádné vzhledem k rozsahu a tématu přiměřený počet četné

Celková úroveň práce:

- vynikající velmi dobrá průměrná podprůměrná nevyhovující

Slovní vyjádření, komentáře a připomínky vedoucího/oponenta:

Téma práce je široké použitými metodami, naopak objektem zkoumání je jasně cíleno na studovaný systém a cíl zjistit interakci D helixů protenů D1 a D2 a vliv mutace na tuto interakci a stabilitu systému. Šíře použitých metod klade zvýšené nároky na volbu úrovně popisu použitých technik, metod, experimentálních protokolů a diskuze výsledků. Těžiště práce je v silové spektroskopii AFM, role optické spektroskopie je podpůrná. Molekulárně dynamické simulace vhodně doplňují experimenty a posilují výsledné závěry.

Úvodní kapitola velmi srozumitelně, s výjimkou stran 23-25, a se správně zvolenou hloubkou výkladu seznamuje s technikami použitými v DP.

Problematické jsou strany 23-25, kde oceňuji snahu odvodit významné vztahy související s interpretací AFM experimentů, ale za cenu řady nedostatků:

- (i) V rovnici (12) chybí i rozměrově další argument v exponenciále, zřejmě $1/kT$.
- (ii) Po větách věnovaných vlivu působení konstantní vnější síly na disociaci následuje nejasné souvětí „Pro pochopení, proč síla závisí na rychlosti růstu síly (loading rate), je důležité vědět že při působení vnější síly se doba života nekovalentní vazby rychle zmenšuje“. Je první věta správně? Nevyžaduje minimálně slovně rozlišit sílu vazby a vnější sílu působící na raménko?
- (iii) Další věta „Závislost naměřené síly na logaritmicky rostoucí rychlosti růstu síly je lineární ...“ už evokuje druhou derivaci síly (?). Můžete tyto pasáže objasnit?
- (iv) Významným nedostatkem je chybějící fyzikální motivace/vysvětlení rovnic (14) a (15). Bez toho už je následující odvození matematickým postupem bez fyzikální náplně.
- (v) Odvození je zbytečně zdlouhavé, některé rovnice opakovány, první odkaz na str. 26 nemá být „(16)“, ale „(18)“, v rovnici (20) není vysvětlen význam symbolu „ β “.

Na straně 30 věnované molekulární dynamice je uvedeno „Data byla analyzována pomocí makra vytvořeného Alexandrem Dulebem v jazyce Python. Takto získaná data byla dále zpracována pomocí funkce v MATLABu“. Chybí podstatná informace, *jaká data byla během simulace získávána a analyzována*, stejně tak význam funkce v MATLABu je nevysvětlen.

Práce se dobře čte a má logickou strukturu. Jazyková i formální úroveň je vynikající, stejně jako práce s literaturou, její citování v textu a uvádění zdrojů u převzatých obrázků. Studentku lze jen pochválit i za kvalitu vlastních obrázků a grafů. Diskuze a závěr jasně shrnují výsledky práce i jejich význam pro výzkum fotosystému II.

Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:

- 1) Vysvětlete rozdíl mezi dihedrálními a torzními úhly (rovnice (2), str. 14).
- 2) Na straně 18 píšete o STM: „Obecně pro tyto metody platí, že rozlišení je závislé pouze na parametrech sondy, přístroj je možné využívat v různých prostředích (vzduch, kapalina,...)“. Opravdu rozlišení nezávisí na zmíněném prostředí (např. studium povrch ve vakuu či plynu vs. hydratovaného povrchu)?
- 3) Text věnovaný AFM spektroskopii v dolní části strany 21 je v souladu s obrázkem č. 9, ale nesouhlasí s obrázkem č. 8 ve fázi B, tj. ohnutí hrotu směrem ke vzorku v přibližovací fázi. Objasněte.
- 4) Na stranách 21, 26 rozdělujete interakce na „specifické a nespecifické“ a pojem specifické interakce je dále v DP používán. Vysvětlete toto rozdělení.
- 5) Jaké kritérium vodíkové vazby bylo použito při analýze molekulární dynamikou (str. 35)?

- 6) Na straně 37 v části věnované CD spektroskopii uvádíte, že „Nejlepší poměr signálu k šumu poskytoval peptid řaděný 100x“. Proč jste se nezabývala i roztokem třeba 10x řaděným?
- 7) Na straně 42 pojednávající o AFM je uvedeno: „Předpokládáme, že disociace probíhá jako únik z harmonické jednorozměrné potenciálové jámy a parametr v v rovnici č. X je $v = 1/2$ “. Proč je předpokládána hodnota $v = 1/2$?

V posudku jsem se zaměřil na spíše nejasnosti práce, na které jsem narazil. Jejich množství vypovídá o mém zaujetí prací a snaze o pochopení detailů této práce a použitých technik. Rozhodně se jedná o velmi kvalitní vědeckou práci.

Prosím studentku o reakci na nedostatky zvýrazněné kurzívou výše a odpovědi na uvedené otázky (dle časových možností).

Navrhuji hodnocení „výborně“, výsledné hodnocení se ale bude odvíjet i od průběhu obhajoby.

Práci

doporučuji

nedoporučuji

uznat jako diplomovou/bakalářskou.

Navrhuji hodnocení stupněm:

výborně velmi dobře dobře neprospěl/a

Místo, datum a podpis vedoucího/oponenta:

J. Budějovíc, 20.5.2011 *Kudrta*

Příloha posudku - drobné nedostatky:

1. V úvodu (str. 8-9) jsem nenašel zmínku o krátkodosahových odpudivých interakcích
2. Překvapilo mne používání slova „absorbce“, oficiální české slovníky používají v souladu s anglickými „absorption, absorb“ termínu „absorpce, absorbovat“ – ale jsem si vědom, že nedůvěryhodné elektronické zdroje také obsahují slovo „absorbce“.
3. V rovnici (4) chybí znaménko mínus.
4. Na straně 14 a 17 studentka částečně míchá názvy simulačních programů a silových polí.
5. Na straně 16 bych ocenil odkazy na literaturu popisující zmíněné algoritmy pro doplňování vodíků do krystalografických struktur.
6. LJ potenciál (rovnice 10) se standardně uvádí s multiplikačním faktorem 4ϵ .
7. Strana 19, 23 – odkazováno na v práci chybějící rovnici Hookova zákona.
8. Strana 33 – odkaz „kapitola č.1.3.3“ má být „kapitola 1.4.3“.
9. Popis obr. 24,25 – zřejmě má být odkazováno na rovnici 21.