



Přírodovědecká
fakulta
Faculty
of Science

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

POSUDEK OPONENTA NA BAKALÁŘSKOU/DIPLOMOVOU* PRÁCI

Autor práce: Bc. Rudolf Binder

Název práce: Řešení struktur serpinů IRS-1 a IRS-4 z *Ixodes ricinus*

Školitel práce: Mgr. Barbora Kašáková, Ph.D.

Konzultant: prof. Mgr. Ivana Kutá-Smatanová, Ph.D.

Oponent práce: doc. Mgr. Jaroslava Lieskovská, Ph.D.

Pracoviště opONENTA: Katedra medicínské biologie, Přírodovědecká fakulta, JCU

	Bodový rozsah hodnocení ¹	Body
(1) FORMÁLNÍ POŽADAVKY		
Celkový rozsah práce (pro bakalářské práce min. 18 stran, pro diplomové práce min. 25 stran), vyváženost rozsahů jednotlivých částí, logická struktura práce (u experimentálních prací doporučení pro teoretickou část do 1/3 celkového rozsahu)	0-3	3
Kvalita literární rešerše (počet použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru, aktuálnost zdrojů)	0-3	3
Správnost používání citačních odkazů (přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací, používání oficiálních zkratk časopisů)	0-3	3
Grafická úprava textu a obrázků	0-3	3
Úroveň souhrnu/annotace (i v angličtině)	0-3	2
Jazyková a stylistická úroveň, respektování platného názvosloví	0-3	3
Správnost a úplnost popisů u obrázků a tabulek (srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	0-3	2.5
Formální požadavky – body celkem		19.5
(2) VĚCNÉ POŽADAVKY		
Splnění cílů práce	0-3	3
Schopnost porozumět výsledkům, jejich interpretace a jasný popis, srozumitelnost diskuze a závěrů	0-3	3
Úroveň diskuse – interpretace výsledků, zařazení do kontextu v literatuře (absence	0-3	1.5

* Nehodící se škrtněte

¹ Bodový rozsah hodnocení: 0-nevyhovující, 1-vyhovující, 2-průměrné, 3-excelentní. U teoretických prací hodnotíte jenom (1) Formální požadavky, u experimentálních prací i (2) Věcné požadavky a u prací v cizím jazyce i (3) Jazykovou úroveň práce v cizím jazyce.

diskuze výsledků s literaturou je nepřijatelná)		
Logika postupu při vlastní výzkumné práci	0-3	3
Úplnost popisu použitých metodik	0-3	3
Experimentální náročnost práce, samostatnost při práci	0-3	3
Úroveň zpracování experimentálních dat	0-3	3
Aktuálnost použitých metod	0-3	3
Přínos práce pro obor a publikovatelnost výsledků (po případném doplnění)	0-3	3
Věcné požadavky u experimentálních prací – body celkem		25.5
(3) PRÁCE V CIZÍM JAZYCE		
Jazyková a stylistická úroveň	0-3	
CELKEM BODŮ (MAX/ZÍSKANÝCH)	48/51²	45

Komentář oponenta:

Práce předložená Bc. Rudolfem Binderem je zaměřená na řešení struktur dvou klíčtčích serpinů Iripinu-1 a Iripinu-4. Struktury těchto inhibitorů byly namodelovány na základě dat získaných rentgenovou krystalografií, které byly autorovi poskytnuty jeho školitelkou specialistkou. K odhalení struktur serpinů autor využil několik modelovacích programů, provedl molekulární nahrazení k vyřešení fázového problému v programu MOLREP a následně rafinaci a validaci struktur s využitím programu REFMAC5. Grafické modely obou struktur byly vytvořeny programem PyMOL a následně vzájemně porovnány. Po formální i obsahové stránce je práce na dobré úrovni a její výstupem je informace o struktuře klíčtčích inhibitorů, které podle mého názoru, mohou být součástí budoucí publikace. Předložená práce je obvykle členěná na několik kapitol. Literární přehled obsahuje jak informace o serpínech obecně, tak o jejich možné konformaci a způsobu inhibice. Druhá část teoretického úvodu je věnována popisu metod programů potřebných na určení struktury. Obě části jsou velice zdařilé, k čemu přispívá i vhodné doplnění textu početnými obrázky. Obzvláště oceňuji podrobné vysvětlení principů metod uplatňujících se při řešení struktur využívajících rentgenovou difrakční analýzu. Výsledky jsou jasně prezentovány v 15 obrázcích a 5 tabulkách a celkový rozsah této kapitoly dosahuje 15 stran. Diskuse čítá 6 stran, no tři strany této kapitoly patří spíš do kapitoly výsledků. K ostatním částem práce nemám výhrady, detaily jsou v připomínkách.

Připomínky:

V názvu práce a cílech je použito označení serpinů IRS-1 a IRS-4 a ve výsledcích a diskusi je použito novějšího označení Iripin-1 a Iripin-4. Je nutné v práci ujednotit názvy serpinů, které se

² Vyberte jednu z hodnot: 48 bodů pro experimentální práce, 51 bodů pro experimentální práce v cizím jazyce

používají.

V práci se objevuje pár nepřesných tvrzení. Např.

Na straně 5 je informace o způsobu přenosu bakterií mezi klíšťaty. Uvádíte, že k přenosu bakterií dochází mezi jednotlivými vývojovými stádii, ale taky mezi jednotlivými klíštěcími generacemi (Parola and Raoult, 2001)'. Toto vyjádření není správné. Přenos bakterií mezi jednotlivými vývojovými stádii je v podstatě přenos mezi jednotlivými klíštěcími generacemi. Opravu existují dva způsoby přenosu, ten druhý způsob je přenos horizontální, tedy přenos mezi klíšťaty a hostitelem, potažmo hostitelem a klíšťaty.

Interleukin 1 β není proteáza jak se mylně uvádí na str. 42.

Na straně 5 je uvedeno, že serpiny byly objeveny v roce 1994 a že první struktura serpinu byla určena v roce 1984 Lobermannem. Zdá se, že časové údaje nejsou správné.

Na str. 14 a str. 6 je zmínka o první struktuře serpinu, informace se však neshodují.

Popis k obr.6 obsahuje nesrozumitelnou větu.

V kapitole výsledků chybí v textu odkazy na obr. 16, 17, 18 a 19.

Diskuse čítá 6 stran a obsahuje porovnání struktury analyzovaných serpinů, tedy Iripinu-1 a Iripinu-4 s dalším klíštěcím serpinem Iripinem-8 v programu PyMOL. Toto je ilustrováno ve 4 obrázcích a obsáhnu to na 3 stranách (44-46). Tato část patří do kapitoly výsledků a souvisí s cílem číslo 6. Diskuse by měla obsahovat jenom srovnání podobností nebo odlišností ve formě textu. Úvaha o tom, co pozorované rozdíly ve struktuře třeba v P1 pozici RCL domény mohou znamenat ve vztahu k funkci těchto inhibitorů na základě srovnání s jinými serpiny by byla přínosná.

V příloze je soubor s volným překladem původních anglických názvů nebo slovních spojení, které se hojně používají při řešení struktur. Ačkoliv je taková příloha nestandardní, pokládám ji za užitečnou. Alternativně by bylo nutno používat víc českých výrazů, resp. překladů přímo v textu.

Otázky:

1. Na extrapolaci fází pro určení struktury Iripinu-1 jste vybrali antigen lidského spinocelulárního karcinomu. Vzhledem na vysoký počet známých struktur různých serpinů (celkem 215), které jsou si strukturně podobné, se mi tento výběr zdá překvapivý. Je běžné, že při metodě molekulárního nahrazení se na extrapolaci fází využívá protein, který je funkčně celkem odlišný?

2. Na straně 27 uvádíte, že při *„rafinaci byl podle mapy elektronové hustoty doplněn do modelu Iripinu-1 kationt Mg²⁺, jelikož ostatní možné ionty se do modelu nehodily a Mg²⁺ byl přítomný v krystalizačních podmínkách*'. Podobně, na str. 33 je uvedeno, že *„do modelu Iripin-4 byl přidán ligand – konkrétně kationt Ni²⁺. Ten byl jedinou možnou volbou a do struktury se nejspíše dostal v průběhu afinitní purifikace*'. Znamená to, že tyto kovové ionty se ve skutečnosti v struktuře Iripinů nenachází? Jaké byly krystalizační podmínky pro studované serpiny, byly pro oba serpiny stejné?

3. Na straně 8 uvádíte serpinopatii. Jaké jsou klinické projevy této nemoci?

4. Existují serpiny, které mají, podobně jako Iripin-4, v RCL smyčce na P1 pozici glutamát? Pokud ano, jaká je předpokládaná funkce?

5. Má Iripin-1 a Iripin-4 různý sklon zaujmout nativní nebo latentní konformaci? Je tato vlastnost závislá na teplotě?

6. Myslíte si, že je možné na základě struktury v případě serpinů predikovat jejich funkci?

Závěr:

I přes výše uvedené připomínky je práce Bc. Rudolfa Bindera na velice dobré úrovni. Jedná se o práci s daty s využitím pokročilých modelových programů a softwarů. Kromě práce s datovými soubory autor prokázal schopnost orientovat se v literatuře, analyzovat a správně prezentovat své výsledky. Konstatuji, že předložená práce splňuje všechny předpoklady kladené na diplomovou práci na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity.

Práci d o p o r u č u j i k obhajobě a navrhuji známku 1-2.³

V Českých Budějovicích dne 12. 5. 2023

.....

podpis

³ Je možné navrhnout známku s tím, že navržená známka může být upravená při obhajobě (pokud se oponent nezúčastní obhajoby, v posudku navržená známka se do výsledné známky nezapočítává). Znamky: výborně (1), velmi dobře (2), dobře (3), nevyhověl (4).