



MASARYK UNIVERSITY
FACULTY OF SCIENCE
DEPARTMENT OF EXPERIMENTAL BIOLOGY

Posudek oponenta habilitační práce

České vysoké učení technické v Praze
Fakulta jaderná a fyzikálně inženýrská

Obor řízení:

Aplikovaná fyzika

Uchazeč:

Ing. Petr Kolenko, Ph.D.

Pracoviště uchazeče:

Katedra inženýrství pevných látek, FJFI, ČVUT

Habilitační práce (název):

Pozorování interakcí bílkovin s ligandy pomocí
makromolekulární rentgenové krystalografie

Oponent:

doc. Mgr. Radka Chaloupková, Ph.D.

Pracoviště oponenta:

Loschmidtovy laboratoře, Ústav experimentální biologie
a RECETOX, Přírodovědecká fakulta,
Masarykova univerzita, Brno

Text posudku

Předkládaná habilitační práce zabývající se studiem interakcí bílkovin s ligandy metodou rentgenové krystalografie je sestavena z 5 publikací z celkového počtu 17 publikací habilitanta. Většina publikací je dílem řady autorů. Autor proto u všech prací uvádí svůj přesně vymezený podíl práce. Publikace jsou prezentovány v mezinárodních impaktovaných časopisech. Práce shrnuje výsledky strukturní analýzy třech různých enzymů a jejich interakce s různými nízkomolekulárními ligandy (inhibitory) a dále výsledky strukturní analýzy komplexu proteinu imunitního systému s jeho receptory, která vyústila k vyřešení 31 krystalových struktur zmiňovaných enzymů a proteinu a jejich komplexů s ligandy (z celkového počtu 52 krystalových struktur), na jejichž řešení se habilitant podílel. Z celkového počtu vyřešených krystalových struktur deponovaných do PDB databáze vyplývá obrovská zkušenost a příspěvek habilitanta pro oblast strukturní biologie proteinů a jejich komplexů s ligandy.

Přestože hlavní motivací práce je pochopení molekulárních mechanismů protein-ligand a protein-proteinových interakcí, teoretický úvod práce obsahuje velmi málo informací o stávajících znalostech biochemických vlastností studovaných systémů, jako např. informace o katalytickém mechanismu studovaných enzymů, katalytických aminokyselinách účastnících se chemické přeměny substrátu, atd. Celý teoretický úvod habilitační práce cituje pouze 19 referencí, což jenom dokládá, že úvod práce v podstatě shrnuje výsledky dosažené uchazečem, které jsou popsány jednak v kapitole 2, pak detailněji v kapitola 3 a znovu opakovány ve shrnutí práce (kapitola 4). V teoretickém úvodu práce postrádám alespoň stručný přehled stávajících znalosti o studovaných systémech daný do kontextu s dosaženými výsledky uchazeče.



Habilitation absolvoval dva zahraniční pobyty zaměřené na produkci a strukturní analýzu proteinů/enzymů. Přestože nepochybuji o pedagogických aktivitách uchazeče, které jsou nedílnou součástí habilitačního řízení, z příloženého životopisu není zřejmé, na jakých pedagogických aktivitách se habilitant aktivně podílí.

Dotazy oponenta k obhajobě habilitační práce

Strukturní analýza nukleasy TBN1 odhalila intermolekulární interakci dvou molekul enzymu, kdy smyčka jedné molekuly TBN1 blokuje aktivní místo druhé, symetricky sdružené, molekuly enzymu. V práci se zmiňuje, že tato intermolekulární interakce představuje důležitý regulační mechanismus enzymu. Znamená to tedy, že TBN1 může v roztoku vytvářet oligomery? V práci se zmiňuje, že TBN1 se v roztoku vyskytuje převážně jako monomer. Je TBN1 aktivní pouze ve formě monomeru nebo je aktivní i jako oligomer?

Biologická aktivita (signalizace) lidského interferonu γ (hIFN γ) je založená na tvorbě ternárního komplexu dvou molekul hIFN γ s receptory 1 a 2, kdy přesné složení komplexu není dosud známo z důvodu chybějící strukturní informace finálního ternárního komplexu. Dosud byly vyřešeny krystalové struktury komplexů hIFN γ :hIFN γ -R1 a hIFN γ -R2. Byla pro vyřešení struktury ternárního komplexu vyzkoušena i jiná strukturní metoda kromě rentgenové krystalografie? Může habilitant komentovat, jaké další metody by bylo možné pro řešení struktury ternárního komplexu hIFN γ :hIFN γ -R1-R2 použít? Jaké další biofyzikální metody by bylo možné aplikovat k získání informací o počtu jednotlivých podsložek tvořících ternární komplex?

Jaké další metody strukturní biologie mohou být v nejbližších letech alternativou k rentgenostrukturní analýze pro řešení komplexů proteinů s ligandy?

V perspektivách rozvoje oboru metod, habilitant zmiňuje nové výpočetní metody umožňující analýzu slabě vázaných či částečně okupovaných ligandů ve strukturách proteinů. Může habilitant uvést konkrétní příklady těchto metod?

Závěr

Habilitační práce Ing. Petra Kolenka, Ph.D. „Pozorování interakcí bílkovin s ligandy pomocí makromolekulární rentgenové krystalografie“ splňuje požadavky standardně kladené na habilitační práce.

V Brně dne 27. února 2018.

.....
podpis