

Oponentský posudek

na doktorskou disertační práci Mgr. Lucie Vaňkové nazvanou:

„Nové vazebné proteiny odvozené od malých proteinových domén cílené na diagnosticky využitelné terče“

Ve své doktorské disertační práci se Mgr. Lucie Vaňková zabývá konstrukcí nových typů vazebných proteinů derivovaných od malých kompaktních proteinových domén. Jako základ nových vazebných proteinů byla v prvním případě použita poslední Cterminální albumin vazebná doména (ABD) G Proteinu streptokoka kmene G148. Tato molekula byla modifikována randomizací 11 kodonů v kódující sekvenci ABD, což mělo vést ke vzniku 2×10^{14} , tedy víc než 2000 nových variant na úrovni proteinu. V druhém případě byla za základ vzata doména 10 Myomesinu; molekulu autoři pojmenovali Myomedin a jde o strukturu připomínající Fv fragment s alfa helikální strukturou v opozici k vazebnému místu.

Variety molekul s vyšší afinitou byly doktorandkou následně selektovány pomocí technologie ribosomálního obohacení. Takto získané molekuly doktorandka dále charakterizovala pomocí vazebných testů a optimální varianty pak dále využívala v následných aplikacích.

Tato práce ukazuje cestu a popisuje technologie pro vývoj nových selektivně se vázajících molekul, což může být potenciálně využito při přípravě molekul vhodných pro diagnostické a v budoucnu snad i pro terapeutické účely.

Mgr. Lucie Vaňková je autorem či spoluautorem pěti publikací (je prvním autorem jedné z nich) otištěných v kvalitních mezinárodních časopisech. Práce je psána pěknou angličtinou, formální úroveň a grafické zpracování je dobré.

K problematice diskutované v doktorské disertační práci mám pouze několik dotazů:

1. Ve dvou případech randomizace vazebného místa byly použity modifikace aminokyselin na vnější straně molekul, u ABD na dvou sousedních alfa šroubovicích a u Myomedinu na

antiparalelních beta listech. V případě ABD jsem zahlédl modifikaci E33W, G34W, tedy poměrně značnou změnu směrem ke vzniku hydrofobních domén na povrchu. Může doktorandka komentovat změnu rozpustnosti, případně tendence tvořit agregáty u nových konstruktů v porovnání s původními molekulami?

2. Uvažovala jste v případě modifikace povrchových smyček nejen o substituci ale i inzerci několika aminokyselin, tak jak je to běžné u některých protilátkových smyček?

3. Rozsah thesí a je natolik ohromující, že i jejích část by stačila na disertaci, proto mne zajímá, které části tvořily hlavní naplň práce doktorandky a které úkoly sama aktivně rozvíjela?

Závěrem konstatuji:

Předložená doktorská disertační práce Mgr. Lucie Vaňkové představuje cenný přínos k problematice konstrukce nových typů vazebných proteinů. Práce je psána srozumitelně, pečlivě, výsledky byly publikovány v impaktovaných mezinárodních časopisech. Autorka ve své doktorské disertační práci dokázala, že je schopna samostatné vědecké práce.

Jelikož předložená práce Mgr. Lucie Vaňkové vyhovuje všem požadavkům kladeným na doktorskou disertační práci, plně ji doporučuji k přijetí.

Praha 5. Prosince 2018

doc. RNDr. Jiří Brynda CSc.
Strukturní biologie, ÚMG, Praha