



Školitelský posudek diplomové práce Bc. Kristýny Šmilauerové

Název práce: Exploring novel strategies targeting HBV

Tématem předkládané diplomové práce Kristýny Šmilauerové je určení nových interakčních partnerů kapsidového proteinu viru hepatitidy B s cílem využít je v budoucnu k případnému terapeutickému zacílení. Kristýna použila moderního přístupu tzv. proximitní biotinylace spojené s vysoce citlivou hmotnostně spektrometrickou detekcí, která umožňuje zmapovat bezprostřední interakční prostor zkoumaného proteinu v nativních podmínkách, tedy v živé buňce. Kristýna ověřila expresi a funkčnost celkem tří různých DNA konstruktů kódujících kapsidový protein ve fúzi s biotin ligasou. S nevhodnějším z konstruktů pak provedla celkem šest nezávislých biologických pokusů proximitní biotinylace, které nejprve analyzovala pomocí western blotu a následně vzorky podrobila proteomické analýze na hmotnostním spektrometru. Ze statisticky zpracovaných proteomických dat Kristýna získala obsáhlý seznam nových možných interakčních partnerů kapsidového proteinu, přičemž vazbu jednoho z nich na kapsidový protein také ověřila. V neposlední řadě se Kristýna pokusila získaný seznam proteinů bioinformaticky zpracovat tak, aby bylo možno posoudit jak biologickou relevanci, tak i výběr případných kandidátů k validaci.

Kristýnina práce je důležitou součástí snahy mnoha laboratoří vyvinout účinnou léčbu hepatitidy B – infekčního virového onemocnění, které je hrozbou v globálním měřítku – a k jehož kontrole je potřeba kombinace několika terapeutických přístupů, zejména těch inovativních. Tato práce poslouží jako základ několika dalších výzkumných projektů v naší laboratoři, zaměřených jak na biologickou interakci virus-hostitel, tak i na vývoj možných antivirotik.

Kristýna si v průběhu řešení práce osvojila řadu molekulárně-biologických a biochemických metod a také se přiučila metodám proteomickým. Ráda bych zdůraznila, že byla první v laboratoři, kdo použil metodu proximitní biotinylace a několik kroků publikovaného protokolu, které vůbec nefungovaly, zvládla rozchodit a optimalizovat. Dále bych vyzdvihla její schopnost práce s tkáňovými kulturami, která ji evidentně baví a pro kterou má velký cit. Mimo předkládanou práci se Kristýna podílela na několika dalších projektech, například naklonovala celou řadu DNA konstruktů, čímž si osvojila metody „Gateway“ klonování či „Gibson assembly“, pomáhala s genotypizací geneticky upravených myší nebo s rekombinantní expresí proteinů v bakteriálním systému a jejich následnou purifikací. Kristýna pracovala po celou dobu s velkým nasazením a zájmem, samostatně a pečlivě. Je přemýšlivá, důsledná a věda ji baví.

Práci doporučuji k obhajobě.

V Praze 3. září 2019

Mgr. Klára Grantz Šašková, Ph.D.