



UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE  
PRÍRODOVEDECKÁ FAKULTA

Katedra biochémie  
Ilkovičova 6, Mlynská dolina CH-1  
842 15 Bratislava 4



Posudok oponenta habilitačnej práce

RNDr. Olgy Heidingsfeld, CSc.

Studium aspartátových proteas patogenných kvasiniek a retrovirů

Predložená habilitačná práca pani RNDr. Olgy Heidingsfeld, CSc. pozostáva z dvoch častí. Prvú časť habilitácie predstavuje 52-stranový úvodný komentár autorky k publikáciám uvedeným v druhej časti práce, ktorú tvorí súbor 29 vedeckých publikácií rozdelených do piatich blokov. Úvodný text je napísaný prehľadne, autorka v ňom vhodne usporiadala jednotlivé publikácie do logicky súvisiacich celkov a uvádza ich význam v kontexte skúmanej problematiky ako po metodologickej stránke (napr. purifikácia proteáz, charakterizácia ich enzymatických vlastností, substrátov, štiepných miest, inhibítorov, skrining sekretovaných kvasinkových proteáz, Ramanova mikrospektrometria kvasinkových vakuol), tak aj z aspektu štruktúry (napr. proteázy kvasinky *C. parapsilosis*) a funkcií proteolytických enzýmov (napr. *processing* retrovirálnych polyproteínov, úloha sekretovaných proteáz v patogenéze kvasinkových infekcií, regulácia expresie a aktivácia proteáz).

Druhú časť práce tvoria reprints originálnych vedeckých publikácií a prehľadných článkov autorky. Tieto práce boli publikované v renomovaných vedeckých časopisoch, včítane viacerých prestížnych periodík z oblasti biochémie a štruktúrnej biológie (napr. *Acta Crystallographica*, *Biological Chemistry*, *European Journal of Biochemistry*, *FEBS Letters*, *Journal of Biological Chemistry*, *Journal of Structural Biology*, *Protein Science*). Publikácie, ktoré sú súčasťou habilitácie, sú zamerané na skúmanie rôznych aspektov štruktúry a funkcie proteolytických enzýmov, včítane proteáz retrovírusov, sekretovaných aspartátových proteáz a vakuolárnych proteáz patogénnych druhov kvasiniek *Candida parapsilosis* a *Candida albicans*, chloroplastovej proteázy Clp z *Arabidopsis thaliana*, ako aj na analýzu zloženia vakuol *C. albicans* a skúmanie desaturázy mastných kyselín kvasinky *C. parapsilosis*. Na priložených publikáciách sa Dr. Heidingsfeld podieľala na príprave a realizácii experimentov, analýze dát i spisovaní rukopisov a má na nich významný autorský podiel, pričom na viacerých z nich je prvou, resp. korešpondujúcou autorkou. Publikácie získali značný ohlas v medzinárodnej vedeckej komunite. Databáza *Science Citation Index* eviduje na práce Dr. Heidingsfeld 480 citácií a jej h-index je 12.

K samotnému textu nemám zásadnejšie pripomienky, čítanie práce ma však inšpirovalo k nasledovným komentárom a otázkam:

1. Súhlasím s tvrdením autorky (s.1), že proteosyntéza v živých organizmoch prebieha na ribozómoch. Zároveň by však bolo by vhodné spomenúť, že syntéza širokej palety peptidov v bunkách prebieha aj mimo ribozómov (tzv. *non-ribosomal protein (peptide) synthesis*).
2. „*Candida*“ nereprezentuje rod (s. 2), ale anamorfný stav, ktorým boli, resp. stále sú, označované druhy bez známeho sexuálneho cyklu. V súčasnosti je však zrejmé, že kandidy patria do viacerých nepríbuzných vetiev fylogenetického stromu podkmeňa Saccharomycotina. Taktiež „kvasinka“ nie je taxonomický ani fylogenetický termín, ale označuje morfológický stav buniek niektorých húb. V tomto kontexte sú druhy rodu *Aspergillus* považované za vláknité huby (nie kvasinky, s. 13), hoci patria do kmeňa Ascomycota, rovnako ako kvasinka *Saccharomyces cerevisiae*.

3. Súhlasím s autorkou, že pred niekoľkými rokmi neboli sekvencie a ani anotácie genómov *C. albicans* a *C. parapsilosis* dostupné. Z tohto pohľadu považujem jej publikácie týkajúce sa analýzy kvasinkových proteáz za priekopnícke. V súčasnosti však anotácie genómov týchto a niektorých ďalších druhov kandid (napr. v rámci *Candida Genome Database*, CGD) patria (po *S. cerevisiae*) k najlepším a sú tiež pravidelne aktualizované. V tejto súvislosti by ma zaujímalo, či k expanzii rodiny SAP proteáz v patogénnych kvasinkách došlo nezávisle a ako rôzne izoformy súvisia s patogenicitou alebo virulenciou. Je rodina sekretovaných aspartátových proteáz expandovaná aj v nepatogénnych druhoch kvasiniek?
4. Je gén kódujúci cytosolický inhibitor IA3 vakuolárnej proteinázy A (PEP4) konzervovaný aj v iných druhoch kvasiniek? Aká by mohla byť jeho fyziologická úloha vzhľadom na rozdielnu vnútrobunkovú lokalizáciu IA3 a PEP4?
5. Vakuolárne funkcie úzko súvisia aj s procesmi bunkového starnutia (napr. s pribúdajúcim počtom delení sa v materských bunkách kvasinky *S. cerevisiae* zvyšuje pH, kým v dcérskych bunkách je pH resetované na pôvodnú úroveň; Hughes & Gottschling (2012) *Nature* 492: 261-265). Dochádza v tejto súvislosti aj k zmenám aktivity vakuolárnych proteáz? Majú mutanty s deléciami génov pre vakuolárne proteázy znížený *fitness*, resp. starnú rýchlejšie?

Záverom by som chcel konštatovať, že habilitačná práca bola vypracovaná na základe výsledkov dlhoročného experimentálneho výskumu, téma práce je aktuálna a dosiahnuté výsledky sú cenným príspevkom k znalostiam o štruktúrach a funkciách rôznych typov proteolytických enzýmov. Predložená práca spĺňa požiadavky štandardne kladené na habilitačné práce a preto navrhujem, aby po úspešnom habilitačnom konaní bola pani RNDr. Olge Heidingsfeld, CSc. udelená akademická hodnosť docent v odbore biochémia.

V Bratislave, 11.3.2019

Prof. RNDr. Jozef Nosek, DrSc.