

Posudek oponenta na disertační práci Mgr. Ivy Hánové

Nové inhibiční mechanismy regulace aktivity katepsinu D

Disertační práce Mgr. Ivy Hánové je koncipována jako komentovaný soubor tří publikací, které vyšly v renomovaných mezinárodních časopisech v rozmezí let 2011-2020. Je psána česky.

Autorka nejprve v Teoretickém úvodu shrnuje současný stav poznání aspartátových proteas a zejména katepsinu D. Úvod je sepsán čtivě a zároveň pečlivě a může zaujmout i nezasvěceného čtenáře. Následuje přehled cílů práce, které jsou stanoveny srozumitelně a ozřejmují, že autorka si za předmět svého bádání vybrala dva katepsiny z rodiny pepsinu: lidský katepsin D (KatD) a katepsin IrKatD1 (v angl. verzi IrCD1) z klíštěte obecného. Autorka dále uvádí stručný přehled metod, které ve svém výzkumu použila.

Výsledky disertační práce Ivy Hánové jsou shrnuty ve třech publikacích. Každou z nich autorka doprovází stručným komentářem, na jehož konci vždy uvádí, čím konkrétně k týmové práci přispěla. Její autorský podíl je v závěru disertace potvrzen školitelem. U dvou ze tří publikací je Iva Hánová uvedena jako první autor, přičemž zejména u publikace z roku 2018 je její podíl opravdu zásadní.

Disertace je zpracována natolik pečlivě, že po formální stránce nemám, co bych jí vytkla. Z obsahového hlediska přináší práce řadu nových poznatků o inhibici (i aktivaci) katepsinů D různými typy molekul, od endogenních, přirozeně se vyskytujících efektorů jako jsou sfingolipidy, přes inhibitor tvořený částí propeptidu katepsinu D až po nově navržené syntetické inhibitory makrocyclického typu odvozené od klasického inhibitoru aspartátových proteas. Osobně považuji zejména první dvě publikace za zásadní a přelomové, přinášející zcela nový pohled na regulaci katepsinu D. Jsou to právě tyto dvě publikace, jichž je Iva Hánová první autorkou. Přívlastek „nový“ poněkud relativizuje fakt, že od vydání první z těchto prací uběhlo 10 let. Její přínos – analýzu role sfingolipidů v modulaci aktivity lidského KatD – přesto považuji za velmi důležitý.

K práci mám následující dotazy:

1. Mohly by fosforylované sfingolipidy ovlivňovat i maturaci KatD?
2. V publikaci č.2 je krátce zmíněn vliv sulfátovaných polysacharidů na autoaktivaci zymogenu IrKatD1 (str. 53 a 70). Můžete prosím upřesnit, které molekuly byly testovány a jakým mechanismem je autoaktivace zymogenu inhibována?
3. Jedním z nejdůležitějších výsledků uvedených v této disertační práci je objev exomísta na klíčícím katepsinu D1 a objev endogenního inhibitoru odvozeného od katepsinového propeptidu, který v exomístě s katepsinem interaguje a funguje jako alosterický inhibitor. Tato interakce je řízena pH, což ilustruje schéma na str. 60. Otázky: Lze předpokládat, že jedna dvojice IrCD1+exosite inhibitor vydrží více cyklů změny pH? Nebo je pravděpodobnější, že bude inhibitor exomísta po jednom „použití“ odbourán? Je známo něco o hydrolýze tohoto inhibitoru prostřednictvím jiných vakuolárních peptidas?

Disertační práci Mgr. Ivy Hánové považuji za velmi kvalitní a přínosnou a doporučuji ji k obhajobě.

