

Posudek školitele diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: Bc. Josef Šulc

Název práce: Příprava a charakterizace vazebných proteinů mimikujících epitopy protilátek neutralizujících virus HIV-1

Hodnocení jednotlivých aspektů práce (ve standardní stupnici 1 až 4)

1. Samostatnost uchazeče/ky

Ve fázi zpřesňování tématu práce	1
Během zpracování zadaného tématu	1
Při sepisování práce	1

2. Komunikativnost, schopnost spolupráce

3. Zájem o práci a pracovní nasazení uchazeče/ky

Případný slovní komentář k bodům 1. až 3. :

Cílem diplomové práce Josefa Šulce byla příprava a charakterizace vybraných vazebných proteinů odvozených od nově popsaného vlastního scaffoldového proteinu nazvaného Myomedin. Tyto proteiny byly identifikovány jako proteinové otisky paratopu široce neutralizující monoklonální protilátky 10E8 vyvinuté infikovaným jedincem proti viru HIV-1. Schopnost Myomedinových variant mimikovat přirozený epitop obalového Env glykoproteinu byla demonstrována schopností stimulovat produkci HIV-1 neutralizujících protilátek v sérech imunizovaných myší. Tím se některé z variant tzv. MLA Myomedinů stávají klíčovou částí vyvíjené experimentální vakcíny proti HIV jako účinné mimikující imungeny.

Protože Myomediny jsou nově popsané vazebné proteiny, tvoří jejich podrobná biochemická, biofyzikální a funkční charakterizace klíčovou součástí projektu směřující k jejich využití jako vakcinačních imunogenů. V rámci řešení daného projektu se Josef Šulc zaměřil zejména na charakterizaci čtyř hlavních variant Myomedinů, a to proteinů MLA024, MLA025, MLA092 a MLA158, které jsou nejlépe schopny stimulovat produkci HIV-1 neutralizujících protilátek a tvoří tak klíčové varianty při vývoji experimentálního prototypu vakcíny. Nicméně v rámci diplomové práce provedl vazebné testy řady purifikovaných proteinů a změřil 13 vazebných křivek konkrétních MLA variant a mateřského nerandomizovaného Myomedinu s odhadem afinity k cílové neutralizující protilátce 10E8, a určil také rozdíl v afinitě ke kontrolní isotypové protilátce IgG lambda. Dále se věnoval charakterizaci vazby jednotlivých frakcí purifikovaných proteinů po gelové permeační chromatografii stanovené pro klíčové MLA varianty. Výše uvedená měření

prováděl student samostatně. Josef Šulc také provedl část plošného skríninku vazebných kandidátů metodou ELISA, molekulární výměnu V5 tagu za Avitag u některých variant a jejich následnou charakterizaci, provedl měření metodou DLS pro frakce MLA proteinů, a nakonec také měření metodou cirkulárního dichroismu pro Myomedin WT a variantu MLA024. Rád bych zmínil, že experimentálních výsledků by jistě bylo získáno více, pokud by nedošlo k zásadnímu omezení experimentální práce laboratoří a dostupnosti biofyzikálních přístrojů po uzavření Centra molekulární struktury, zejména ve třetí vlně koronavirové pandemie. Vynucené omezení experimentální práce tak využil Josef Šulc k vypracování výsledků dosažených pomocí in silico modelování, zejména pak dokováním a molekulární dynamickou simulací. Tyto výsledky tvoří druhou část předložené diplomové práce. V tomto směru bych chtěl vyzdihnout jeho schopnosti a velké nadšení pro učení se nových přístupů i modelovacích metod. Získané výsledky přispěly k pochopení molekulárních interakcí studovaných proteinů a budou užitečné pro další modifikace Myomedinových variant.

Na závěr bych rád sdělil, že Josef Šulc strávil v naší laboratoři celkem čtyři roky a přišel k nám s jasně vyhraněným zájmem o problematiku vývoje mimikujících proteinů jako nástroje pro vývoj HIV vakcíny. V tomto směru splnil naše očekávání, pracoval velmi samostatně, rád komunikoval se zkušenějšími kolegy a diplomovou práci sepisoval s vlastní invencí. V teoretické části pak dostal značný prostor uplatnit své myšlenkové přístupy a modelovací dovednosti.

C. Celkový návrh

Práci doporučuji k přijetí k dalšímu řízení: **ANO**

Navrhovaná celková klasifikace: 1

Datum vypracování posudku: 26. 8. 2021



Jméno a příjmení, podpis školitele: RNDr. Petr Malý, CSc.