

Oponentský posudek

na doktorskou disertační práci RNDr. Milana Kožíška nazvanou: „Overcoming drug resistance: The discovery, design and characterization of new nonpeptidic inhibitors of HIV-1 protease“

Ve své doktorské disertační práci se RNDr. Milan Kožíšek zabývá problematikou vývoje nových a účinnějších inhibitorů HIV-1 proteasy. Hlavní pozornost je věnována jednak přípravě a charakterizaci rekombinantní HIV-1 proteasy s mutacemi odpovědnými za rezistenci vůči inhibitoru nelfinaviru, dále pak enzymologické charakterizaci vybraných metalokarboranů, které se ukazují být slibnými inhibitory HIV-1 proteasy. První část anglicky psané práce obsahuje teoretický úvod, který shrnuje současnou problematiku rozšíření viru HIV, struktury a funkce HIV proteasy a její inhibice různými inhibitory. Druhá část práce se skládá ze separátů čtyř publikací na diskutovaná témata, na kterých je RNDr. Milan Kožíšek dvakrát prvním autorem a dvakrát druhým autorem.

Ve své práci RNDr. Milan Kožíšek nejdříve detailně objasnil mechanismus vzniku rezistence vůči nelfinaviru, který je inhibitorem HIV proteasy první generace. Kombinací bodové mutagenese, termodynamických a kinetických studií a molekulárního modelování ukázal, že největší vliv na vznik rezistence má dvojitá mutace D30N a N88D, která výrazně ovlivňuje konformační flexibilitu HIV proteasy při vazbě nelfinaviru. V druhé části práce se RNDr. Milan Kožíšek věnoval studiu interakcí HIV proteasy s vybranými metalokarborany. Byla provedena enzymologická charakterizace řady metalokarboranů a byl nalezen vztah mezi inhibiční aktivitou a strukturálními rysy těchto slibných inhibitorů. Hlavní výhodou melakarboranových inhibitorů je jejich účinnost vůči multirezistentním HIV proteasám, které vznikly v důsledku používání předešlých inhibitorů. Ve spolupráci se skupinou Dr. Řezáčové byly také vyřešeny dvě krystalové struktury komplexu HIV proteasy se studovanými metalokarborany.

RNDr. Milan Kožíšek je autorem či spoluautorem 17 publikací (prvním autorem pěti publikací) otištěných ve velmi kvalitních mezinárodních časopisech. Práce je psána velmi pěknou angličtinou, formální úroveň a grafické zpracování je vynikající.

K problematice diskutované v doktorské disertační práci mám pouze dva drobné dotazy:

1. Máte nějaké mechanistické vysvětlení proč dvojice mutací D30N+N88D má takový vliv na konformační flexibilitu HIV proteasy?
2. Pro budoucí klinické použití nových inhibitorů je důležitá jejich rozpustnost ve vodě a jejich stabilita. Jaká je rozpustnost studovaných metalokarboranů ve vodě? Jak jsou tyto sloučeniny stabilní?

Závěrem konstatuji:

Předložená doktorská disertační práce RNDr. Milana Kožíška představuje cenný přínos k vývoji nových inhibitorů HIV proteasy. Práce je psána srozumitelně, pečlivě, výsledky byly publikovány v prestižních mezinárodních časopisech. Autor ve své doktorské disertační práci dokázal, že je vyspělým vědeckým pracovníkem, schopným samostatné výzkumné práce.

Jelikož předložená práce RNDr. Milana Kožíška více než vyhovuje všem požadavkům kladeným na doktorskou disertační práci, plně ji doporučuji k přijetí.

Praha 11. června 2010

doc. RNDr. Tomáš Obšil, Ph.D.
Katedra fyzikální a makromol. chemie
Přírodovědecká fakulta UK, Praha