

Oponentský posudek

na doktorskou disertační práci Mgr. Pavla Madera nazvanou: „Structure, Function and Inhibition of Human Carbonic Anhydrases“

Ve své doktorské disertační práci se Mgr. Pavel Mader zabývá strukturními studii dvou forem karbonické anhydrasy (CA IX a CA II) a dále komplexu Fab fragmentu monoklonální protilátky M75 s epitopem odvozeným z proteoglykanové domény CA IX. Lidské karbonické anhydrasy jsou metaloenzymy účastníci se řady fyziologických a patofyziologických procesů. Exprese CA IX je spojena s řadou lidských nádorů a její funkce v onkogenezi je zatím neznámá. První část anglicky psané práce obsahuje teoretický úvod, který shrnuje současnou problematiku týkající se struktur a funkcí karbonických anhydras. Druhá část práce obsahuje přehled metod, které autor ve své práci používal. Následně je uveden přehled výsledků s diskusí a seznam citované literatury. Na závěr jsou k práci přiloženy separáty dvou autorových publikací na diskutovaná témata.

Ve své práci Mgr. Pavel Mader nejdříve diskutuje výsledky strukturních studií dvou komplexů CA II s inhibitory, které byly odvozeny od 3,4-dihydroisochinolin-2(1H)-sulfonamidu. Tyto dvě struktury vyřešené s vysokým rozlišením umožnily detailně popsat interakce vybraných inhibitorů s aktivním centrem enzymu. I když se nejedná o první či jediné existující struktury komplexu CA II s inhibitory, uvedené struktury ukazují další nové informace použitelné při designu nových a účinnějších inhibitorů. Mezi tyto výsledky např. patří zjištění, že absolutní konfigurace navázaného enantiomeru je R, což naznačuje, že inhibiční aktivitu vykazuje pouze jeden enantiomer inhibitoru. V další části práce jsou uvedeny výsledky popisující expresi, purifikaci a krystalizaci enzymu CA IX. Zde autor konstatuje, že i přes velké úsilí se nepodařilo připravit difraktující krystaly této formy CA. V poslední části práce je diskutována struktura komplexu Fab fragmentu myši monoklonální protilátky M75 s epitopem peptidu, který reprezentuje část PG-segmentu CA IX. Tato studie ukázala detaily interakcí mezi protilátkou a příslušným antigenem, což může být potenciálně využito při přípravě nových protilátek pro terapeutické či diagnostické účely.

Mgr. Pavel Mader je autorem či spoluautorem tří publikací (je prvním autorem jedné z nich) otištěných v kvalitních mezinárodních časopisech. Práce je psána pěknou angličtinou, formální úroveň a grafické zpracování je dobré.

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

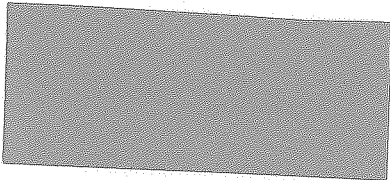
1. Ke krystalizaci komplexů CA II s inhibitory byly použity inhibitory označené jako #2 a #3 v tabulce 4 na str. 43. Proč byly vybrány právě tyto dva inhibitory? Bylo to na základě jejich vazebné afinity, jejich rozpustnosti či jiného parametru?
2. Struktura CA IX (Alterio et al. 2009) obsahuje mutaci Cys(41)Ser. Jaký byl účel této bodové mutace?

Závěrem konstatuji:

Předložená doktorská disertační práce Mgr. Pavla Madera představuje cenný přínos k problematice struktury a funkce karbonických anhydraz. Práce je psána srozumitelně, pečlivě, výsledky byly publikovány v mezinárodních časopisech s IF. Autor ve své doktorské disertační práci dokázal, že je schopen samostatné vědecké práce.

Jelikož předložená práce Mgr. Pavla Madera vyhovuje všem požadavkům kladeným na doktorskou disertační práci, plně ji doporučuji k přijetí.

Praha 2. září 2010



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