

Oponentský posudek disertační práce
„Structure, Function and Inhibition of Human Carbonic Anhydrases“
Mgr. Pavla Madera

Karbonické anhydrázy ovlivňují řadu biologických procesů důležitých pro správnou funkci organismu a mohou sloužit též jako indikátory probíhajících nemocí. Konkrétní výběr tématu – biochemická a strukturní analýza lidské CAIX vhodně zapadá do vědecké náplně laboratoře Strukturní biologie ÚMG, AV ČR. Práce nabízí potenciální perspektivy při využití získaných výsledků při včasné vyhledávání několika typů maligních nádorů.

Cílem práce Mgr. Pavla Madera byla

1. příprava rekombinantní lidské CAIX v *E. coli* a eukaryotických expresních systémech,
2. příprava a krystalizace komplexů CAII a CAIX s vybranými inhibitory,
3. objasnění důvodů vazby monoklonální protilátky M75 namířené proti CA IX, vyřešením struktury komplexu M75 Fab fragmentu s jeho epitopem GDEELP v CAIX pomocí rtg strukturní analýzy

Práce obsahuje 24 stránkový úvod do problematiky a na 18 stranách jsou popsány experimentální techniky. Vlastní experimentální výsledky jsou prezentovány a diskutovány na 48 stranách. Je evidentní, že všechny body zadání práce byly splněny. Autor zvládl obtížné techniky rekombinantní přípravy proteinů a metodiku proteinové krystalografie. Demonstroval to úspěšnou přípravou a charakterizací vysoce čistých proteinů (CAII, CAIX, M75 Fab). Podařilo se mu vyřešit trojrozměrnou molekulární strukturu čtyř struktur (komplex CAII + DT1, komplex CAII + DT2, Fab M75, komplex Fab M75 + epitop CAIX). Získané výsledky byly zpracovány na vysoké úrovni a byly opublikovány v časopisech s velice dobrým renomé a „impact faktorem“ (*Proteins* a *Journal of Medicinal Chemistry*).

Po formální stránce je práce zpracovaná dobře až na několik drobností. Například na straně 43 chybí vysvětlivky k odkazům a,b,c,d uvnitř tabulky inhibitorů (vysvětlivky jsou pouze v publikaci uvedené v příloze disertace).

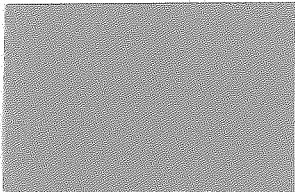
Rád bych, aby se autor:

- vyjádřil ke konformaci CAIX epitopu navázaného v Fab M75 s dostupnými informacemi o obdobné sekvenci uvnitř proteinu CAIX z hlediska konstruktury vyřešeného v roce 2009 Alteriou et al.,
- okomentoval, na základě znalosti již známé struktury CAIX, proč mutace C41S u CAIX vedla k úspěšné krystalizaci proteinu,

- vyjádřil k výběru inhibitorů pro studii a k důvodům enantiomerní selektivity vazebných míst v aktivním místě a na povrchu proteinu,
- okomentoval, zda-li je možné počítat s využitím inhibitorů vykazujících vysokou selektivitu k CAIX oproti CAII jako nosičů markerů pro ozařování nádorů,
- okomentoval, zda-li jsou k dispozici studie možného využití změn, ke kterým dojde, pokud se inhibicí CAIX naruší regulace pH uvnitř nádoru.

Předložená disertační práce představuje veliký rozsah pečlivé práce, je kvalitní, a je zajímavá jak z teoretického hlediska, tak i z hlediska budoucích aplikací v lékařství. Splňuje všechny předpoklady kladené zákonem a proto ji jednoznačně doporučuji jako podklad k udělení titulu PhD.

V Praze 23. 8. 2010



RNDr. Jindřich Hašek, DrSc