

## **Oponentský posudek na doktorskou práci mgr. Petra Kašpárka: Generation and analysis of mutant mouse models to study pathophysiological roles of KLK5 and KLK7 in epidermis**

Doktorská práce mgr P. Kašpárka obsahuje 88 stran textu včetně literatury schémat a grafů a je sepsána jako zdařilé dílo v anglickém jazyce. Samotná dizertace je podložena třemi publikacemi a jedním rukopisem. Práce se zaměřují na roli vybraných serinových proteáz – kallikreinů 5 a 7 v udržování funkční epidermis. Cílem práce bylo zjistit jaký bude mít vliv delece KLK5 a KLK7 na fenotyp myši epidermis. Význam tohoto vědeckého počínu spočívá v tom, že funkce kallikreinů dosud nejsou dostatečně probádány a navíc jsou některé disfunkce exprese KLK spojovány s kožními onemocněními např. dermatitida, lupénka atd. Za tímto účelem mgr. Kašpárek připravil pomocí technologie TALEN myši modely těchto onemocnění s deletovanými KLK5, KLK7 a SPINK5, který inhibuje aktivitu KLK5. První část dizertace se tedy zdařila výtečně a je opublikována – viz Kašpárek et al. 2014.

V druhé části dizertace se podařilo P. Kašpárkovi vytvořit terminační kodon v aktivním místě SPINK5, čímž se mu podařilo simulovat tzv. Nethertonův syndrom. Vzhledem k tomu že LECT1, jako produkt genu SPINK5 inhibuje aktivitu KLK5, jeho absence u modifikovaných myši vedla ke zvýšené produkci KLK5, což mělo u myši letální efekt se symptomy identickými pro Nethertonův syndrom u lidí. Následná trojitá inaktivace genů KLK5, KLK7 a SPINK5 vedla k významnému zmírnění kožních syndromů. Tyto prioritní výsledky byly následně opublikovány v prestižním časopise PLOS Genetics.

Dizertační práci mgr. Kašpárka považuji za velice zdařilou. Samotná dizertační práce dostatečně shrnuje metodologické přístupy vedoucí k vytvoření TALEN mutantů a jednoznačné změny ve fenotypu myši mě utvrdily ve správnosti tohoto přístupu. Tento výsledek zároveň potvrzuje, že evolučně starší kallikreiny, které má i člověk, plní unikátní funkce a nemohou být u myši nahrazeny kallikreiny odvozené od KLK1 (tzv. KLK1-related peptidases). Do diskuze nabízím několik otázek, které ale nemohou nijak snížit tuto kvalitní dizertační práci.

1. Vzhledem k tomu, že KLK5 aktivuje Cathelicidin / CAMP, CRAMP, očekával bych že jeho vyšší hladiny by mohly zároveň likvidovat přirozenou mikroflóru či mikrobiom. Pozorovali jste jakékoli efekty na mikrobiom, či na pokles v růstu či hmotnosti, které by se k takovému efektu daly vztáhnout?
2. Druhá otázka souvisí s první. Jaké další efekty jste u jednotlivých myších modelů dále pozorovali? Detegovali jste na úrovni chování nějaké změny (např. na úrovni hygienického chování – selfgrooming snížený či zvýšený)? Dokážu si představit, že snížený selfgrooming u takto poškozené myši by byl důsledkem vyšší citlivosti kůže.

Na závěr posudku bych rád konstatoval, že dizertační práci mgr. Kašpárka považuji za kvalitní dílo, doporučuji jí k přijetí a k udělení titulu Ph.D.

Doc. Mgr. Pavel Stopka, Ph.D.

Vestec, 30.3. 2017