

**SPOLEČNÁ LABORATOŘ BIOLOGIE NÁDOROVÉ BUŇKY 1. LÉKAŘSKÉ FAKULTY UNIVERSITY
KARLOVY V PRAZE A FYZIOLOGICKÉHO ÚSTAVU AV ČR**

Prof. MUDr. Aleksi Šedo, DrSc., Ústav biochemie a experimentální onkologie, 1. LF UK

U Nemocnice 5, 128 53, Praha 2

Tel/Fax.: +420-2-2496 5826, Mobile: +420-728 748 692, E-mail: Aleksi@cesnet.cz,

www.lf1.cuni.cz/lbnb



**Oponentský posudek doktorské disertační práce Ing Jany Pokorné "Modulation of HIV-1
Protease Activity"**

Předložená práce prezentuje v rozsahu cca 84 stran včetně velmi solidního seznamu referencí obecný úvod do problematiky, vlastní práci autorky a její interpretační závěry. Z formálního pohledu je cenné připojení autorčiných prací *in-extenso* (čtyři originální a jedna přehledná), publikovaných v kvalitních mezinárodních časopisech, v nichž je možno dohledat další relevantní informace.

Předložená práce na tradiční platformě školitelské laboratoře – problematice HIV proteasy – řeší vlastně tři okruhy souvisejících otázek. Prvním okruhem je strukturně-aktivitní charakterizace nové skupiny inhibitorů HIV proteasy na bázi karboranů. Druhým je studium vztahu mutací cílové struktury retrovirové proteasy k účinnosti modulátorů její aktivity - inhibitorů maturace viru HIV, interagujících primárně právě se substrátem této proteasy. Třetí okruh představují studie vlivu zásaditých iontů na průběh inhibice HIV proteasy.

Úvodní přehledová část kvalifikovaně a přehledně shrnuje problematiku v současnosti využívaných léčebných konceptů HIV infekce a AIDS, zohledňuje epidemiologické souvislosti a perspektivy a ač psána nelékařem, velmi dobře a přiměřeně kriticky je hodnotí. Celá úvodní část práce představuje velmi dobrý a ilustrativní souhrn znalostí o pěti v současnosti používaných protivirových strategiích a jsem přesvědčen, že je materiálem, který by byl nepochybně ve formě přehledného článku velmi užitečný naší klinické komunitě. Autorka totiž prokazuje nejen špičkovou znalost problematiky molekulární podstaty účinku těchto léčiv, ale i schopnost profesionálního kritického přístupu v hodnocení problematických vlastností studovaných látek včetně zohlednění globálně ekonomických a souvisejících lékově-politických aspektů (viz též závěrečná diskuse disertace). V tomto kontextu považuji za velmi přínosný již zpublikovaný přehledný článek (příloha 1), věnovaný inhibitorům HIV-1 proteasy.

V části práce věnované novým inhibitorům HIV proteasy na bázi metalokarboranů je třeba ocenit širší výsledků. Ty zahrnují charakteristiky pěti reprezentantů této skupiny inhibitorů ve vztahu k panelu sedmi variant HIV proteasy navíc v porovnání se sedmi klinicky užívanými inhibitory. V těchto experimentech karborany vykazují nejen dobré inhibiční parametry, ale i obecně lepší výsledky z hlediska své nezávislosti na mutačním statu proteasy. Dalším přínosem je i popis mechanismu inhibice různých metalokarboranů a v neposlední řadě též vyřešení struktury enzymu v interakci s inhibitorem.

Další studie, na nichž se disertantka podílela, přispěly k pochopení komplexity vztahu inhibitoru maturace HIV viru (bevirimatu) k celkovému "proteolytickému prostředí" a naznačují tak i možnou souvislost jejich terapeutické účinnosti s dosavadním průběhem onemocnění (selekcí specifických resistantních mutant HIV proteasy).

Další část disertace se zabývá vlivem zejména sodných a draselných iontů (ovšem nejen) na aktivitu HIV proteasy. Kombinuje přístupy experimentální a výpočetní. Je přínosem pro pochopení některých vlastností proteasy v komplexním biologickém (a tudíž medicínsky relevantním) biologickém systému.

Kapitola diskuse dobře vkládá autorčiny výsledky do kontextu se známými fakty a rovněž odkazuje i na několik významných, ač dosud nepublikovaných předběžných pozorování (farmakokinetika a biologická dostupnost metalokarboranů).

V závěru je třeba připomenout, že kandidátčina publikační historie je mnohem širší, než vlastní soubor publikací tvořících základ jí obhajované práce. Navíc originální struktury byly, i díky vkladu adeptky, úspěšně patentovány na národní i mezinárodní úrovni. Celá disertace je dobrým příkladem, že excelentní laboratoř s konsistentní historií a programem představuje záruku individuálního úspěchu studentů.

Ve svém souhrnu celá práce přináší cenné a originální výsledky, kvalitní a věrohodné poznání a představuje nezpochybnitelný přínos pro obor.

**Na základě závažnost tématu, splnění cílů práce a jejího publikačně doloženého přínosu
DOPORUČUJI bez výhrad a s potěšením práci přijmout jako podklad pro udělení hodnosti
PhD.**

Otázky:

Jakým způsobem byla vybrána a dále analyzována skupina boranů?

Jaké jsou zkušenosti s touto skupinou látek v medicíně, zejména ve vztahu k jiným skupinám patogeneticky významných enzymů?

Jaký je osud patentů Vaší laboratoře chránících tyto látky?