

## Oponentský posudek na disertační práci Ing. Jany Pokorné

### „Modulation of HIV-1 protease activity“

Autorka Ing. Jana Pokorná překládá k obhajobě disertační práci zaměřenou na proteasu HIV. Práce je rozdělena do dvou částí. Cílem první části práce bylo analyzovat vztah mezi strukturou a funkcí tohoto enzymu a zjistit účinnost dvou typů inhibitorů HIV proteasy. V další části práce se disertantka zabývala vlivem sodných a draselných iontů na aktivitu HIV proteasy.

Práce je psána srozumitelně, velmi dobrou angličtinou a obsah jednotlivých částí je vyvážený. Po teoretickém úvodu, který je velmi čtivý a v dostatečné míře seznamuje čtenáře s problematikou, následuje výčet cílů práce a stručný komentář k výsledkům, obsažených v pěti publikacích, na nichž disertantka svoji práci zakládá. Ty tvoří druhou polovinu práce.

Část zasvěcená inhibitorům monitoruje inhibiční aktivitu různých substituentů metalokarboranu, tj. inhibitoru, kterému se laboratoře doc. Konvalinky v poslední době systematicky věnuje. Substituce byly provedeny s cílem pozměnit velikost a náboj centrální části molekuly. Je diskutováno poněkud překvapivé zjištění různých typů inhibice těchto molekul. Byla pozorována jak kompetitivní, nekompetitivní i směsná inhibice standardního typu proteasy.

Testované metalokarboranové sloučeniny rovněž vykazovaly dobré inhibiční schopnosti vůči mutantním formám proteasy resistantním vůči známým inhibitorům.

Druhým studovaným inhibitorem je známý a klinickými studii ověřovaný inhibitor skládání HIV, bevirimat, který se váže v oblasti CA/p2. I zde se disertantka zaměřila na porovnání resistantních forem proteasy s divokým typem tohoto enzymu. V publikaci je diskutována příčina různých hladin resistance k bevirimatu v souvislosti se štěpením mutovaných míst v Gag. Autoři dospěli k závěru, že resistance k bevirimatu souvisí s rozdíly ve schopnosti mutantních proteas štěpit cílové místo CA/p2.

K autorce mám následující dotazy:

Jak si vysvětlujete různé mechanismy inhibice u skupiny relativně podobných inhibitorů odvozených od jedné sloučeniny? Nehrozí v tom případě riziko, že budou inhibovány i jiné aspartátové, či další proteasy?

Proč nebylo při studiu vlivu  $\text{Na}^+$  a  $\text{K}^+$  iontů použito fyziologické pH, ale spíše kyselé prostředí?

Je známo, že se poměr těchto iontů mění v závislosti na fyziologickém stavu buňky např. při vstupu do apoptosy. Je však rovněž zřejmé, že studované koncentrace kovů jsou výrazně vyšší, než

fysiologické. Připustila byste, byť hypotetickou, možnost vlivu těchto iontů na aktivitu proteasy přímo v buňkách např. při lokálních změnách koncentrace a poměru  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ?

Je zřejmé, že Ing. Pokorná vypracovala velmi kvalitní disertační práci v prostředí kde je takováto kvalita standardem. Ze soupisu prací navíc vyplývá, že Ing. Pokorná publikovala i další práce, které s disertací přímo nesouvisejí.

Závěrem proto konstatuji, že předložená práce splňuje požadavky kladené na disertační práci, a proto ji doporučuji přijmout k obhajobě.

V Praze dne 27. 5. 2013

Prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.