

Oponentský posudek

na doktorskou disertační práci Mgr. Adély Jílkové nazvanou: „Strukturní a funkční analýza katepsinu B1 z krevničky *Schistosoma mansoni*“

Ve své doktorské disertační práci se Mgr. Adéla Jílková zabývá strukturní a funkční charakterizací katepsinu B1 z *S. mansoni* (SmCB1), což je parazit způsobující onemocnění schistosomózu. Proteasa SmCB1 se vyskytuje ve střevě tohoto parazita, kde hraje klíčovou roli v trávení (degradaci) hemoglobinu. Tento enzym vykazuje jak endopeptidasovou, tak i exopeptidasovou aktivitu a je považován za nadějný cíl pro vývoj nových chemoterapeutik proti schistosomóze. Vzhledem k rozšíření schistosomózy ve světě a velkému počtu osob, které trpí tímto onemocněním je téma této doktorské disertační práce důležité a velmi aktuální.

Disertační práce Mgr. A. Jílkové je psána tzv. zkrácenou formou a obsahuje úvod do studované problematiky, stručné shrnutí metod, cíle práce, výsledky a diskusi, které jsou prezentovány prostřednictvím čtyř již publikovaných prací a jednoho rukopisu (který byl nedávno přijat k otištění), závěry a seznamem citované literatury. Každý článek je uveden stručným souhrnem a přesným vymezením podílu doktorandky na dané práci. První publikace se zabývá identifikací inhibičních oblastí v propeptidu SmCB1 a racionálním vývojem nových inhibitorů odvozených od nalezeného přirozeného inhibičního motivu. Druhá práce se věnuje strukturní charakterizaci SmCB1 a prezentuje krystalovou strukturu tohoto enzymu ve formě komplexů se třemi kovalentními peptidomimetickými inhibitory. Tato práce ukázala, že SmCB1 je vhodným cílem pro vývoj chemoterapeutik proti schistosomóze. Třetí práce se zabývá vývojem výpočetní metody umožňující efektivní predikci účinnosti kovalentních vinylsulfonových inhibitorů SmCB1 *in silico*. Ve čtvrté práci autoři provedli kombinaci různých experimentálních přístupů detailní charakterizaci mechanismu aktivace SmCB1 a ukázali, že sulfatované polysacharidy mohou fungovat jako přepínač mezi různými způsoby aktivace SmCB1. Poslední pátá publikace je přehledový článek, který sumarizuje současné trendy problematiky katepsinových proteas.

Předložená disertační práce ukazuje, že Mgr. A. Jílková zvládla celou řadu molekulárně biologických, biochemických a biofyzikálních metod (např. přípravu SmCB1 rekombinantní expesí v kvasinkách *P. pastoris*, metody purifikace proteinů a peptidů, biofyzikální charakterizace připravených bílkovin, krystalizace, určování kinetických parametrů připraveného enzymu atd.). Disertační práce je založena na pěti člancích publikovaných v kvalitních impaktovaných časopisech, přičemž na dvou z nich je Mgr. Jílková první autorkou. Práce je psána česky, má standardní členění a z formálního hlediska je dle mého názoru vše v pořádku. Přítomnost gramatických chyb a formulačních nepřesností je minimální.

K problematice diskutované v doktorské disertační práci mám následující dotazy, které jsou spíše náměty pro diskusi:

1. Čím si vysvětlujete, že i přes značné rozšíření schistosomózy ve světě a velký počet nakažených osob se v současné době stále používá k její léčbě pouze praziquantel? Byly již v rámci pokročilých stádií klinických testů testovány i jiné látky proti schistosomóze?
2. Hlavním cílem vašich studií bylo nalézt vhodné inhibitory SmCB1. Jaká je specifita studovaných látek? Inhibují tyto látky i lidské katepsiny či jiné lidské proteasy? Jestli ano, tak jak by mohlo být dosaženo lepší specifity?
3. Který typ inhibitorů SmCB1 se zdá být nejslibnější pro další vývoj chemoterapeutik proti schistosomóze? Jsou to vinylsulfonové inhibitory či peptidomimetické inhibitory či jiná skupina látek?
4. V publikaci č. 2 jsou studované inhibitory klasifikovány do tří tříd podle jejich schopnosti měnit fenotyp *S. mansoni*. Jaké parametry by měl mít optimální inhibitor (IC50, rychlost působení)? Co ovlivňuje rychlost, s jakou inhibitor mění fenotyp parazita? Je to jen jeho vazebná afinita?

Závěrem konstatuji:

Předložená doktorská disertační práce Mgr. Adély Jílkové představuje cenný přínos ke studiu struktury, funkce a inhibice katepsinu B1 z *S. mansoni*. Práce je psána srozumitelně, pečlivě, výsledky byly publikovány v kvalitních mezinárodních časopisech s IF. Autorka ve své disertační práci dokázala, že je vyspělou vědeckou pracovnící, schopnou samostatné výzkumné práce.

Jelikož předložená práce Mgr. A. Jílkové vyhovuje všem požadavkům kladeným na doktorskou disertační práci, plně ji **doporučuji** k přijetí.

V Praze 15. září 2014

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