



## **Oponentský posudek disertační práce Ing. Anny Koslové nazvané:**

### **“ REPLIKAČNÍ BLOKY VIRU ROUSOVA SARKOMU V SAVČÍCH BUŇKÁCH ”**

Předložená disertační práce Anny Koslové, byla vypracována v renomované laboratoři pod vedením dvou špičkových retrovirologů; nejprve prof. Jana Svobody a v závěru pod vedením RNDr. Jiřího Hejnarů. Je věnována velmi důležité, a přes úsilí mnoha laboratoří, dosud málo objasněné otázce týkající se mezidruhových bariér vedoucích k restrikci virů. Modelem vybraným pro toto studium byl virus Rousova sarkomu (RSV), tedy virus velmi dobře charakterizovaný ve jmenované laboratoři. Disertantka si vytyčila dva cíle: a) objasnit, za jakých okolností vstupuje virus do savčích buněk, které nejsou běžně tímto ptačím virem infikovány a b) proč virus, který přestože do těchto buněk vstoupí, se v nich nemůže replikovat. Autorka pojala tento úkol komplexně s využitím širokého spektra molekulárně biologických metod. Identifikovala mutace obalového glykoproteinu (Env), které ovlivnily tropismus původně specifický pro kuřecí buňky, a navodily schopnost RSV infikovat i křeččí nebo lidské buněčné linie. Zajímavý je fakt, že některé z mutací navozujících savčí tropismus spadají do transmembránové oblasti Env. Dále Ing. Koslová zjistila, že savčí buňky infikované těmito mutantními viry sice neprodukují infekční viriony, ale mohou tuto schopnost získat při fúzi s kuřecími fibroblasty. Detailně se disertantka posléze věnovala charakterizaci změn navozených touto fúzí a to jak na úrovni transkripce virové RNA, jejího sestřihu a exportu z jádra, tak produkce virových proteinů.

Co bych chtěl vyzdvihnout je, že se jedná o precizně odvedené experimenty odpovídající na originální a jasně formulovanou otázku. O vysoké kvalitě jejích výsledků jednoznačně vypovídá i fakt, že je publikovala ve dvou velmi prestižních časopisech a na obou publikacích je první v pořadí autorů.

Je nesporné, že autorka prokázala schopnost samostatné vědecké práce, včetně interpretace dosažených experimentálních výsledků. Mám následující dotaz k problematice buněčné restrikce. Pro většinu retrovirů včetně RSV platí, že vytvoření virových částic ze strukturních polyproteinů Gag je umožněno interakcí těchto molekul s cytoplasmatickou membránou. V případě HIV byla prokázána specifická interakce s fosfatidylinositol-(4,5)-bisfosfátem (PI-(4,5)-P2) typickým pro cytoplasmatickou membránu (CM) savčích buněk. Byly publikovány mutanty HIV, jejichž Gag se místo na CM vázal na intracelulární membrány

obsahující jiné fosfolipidy. U většiny savčích retrovirů je interakce s CM posílena N-terminálním myristylem v molekule Gag, který je po navázání na membránu nahrazen jedním mastným řetězcem PI-(4,5)-P2. V Gag RSV však tato modifikace chybí. Domnívá se disertantka, že by neschopnost produktivní infekce mohla souviset s vazbou RSV Gag na jiný typ fosfolipidů než je tomu u HIV a dalších savčích retrovirů? S tím souvisí otázka, zda je známo zastoupení fosfolipidů CM kuřecích fibroblastů (je podobné jako v CM savčích buněk)? Dle mého názoru je aktivovaný RSV infikující savčí buňky, který je ale neschopný v nich tvořit částice vhodným kandidátem pro genové terapie. Prosím disertantku aby se zamyslela nad důvodem dosud malého pokroku v tomto ohledu. Je problémem např. nízká infektivita pro nedělící se buňky?

Obsahová i formální stránka práce, stejně jako autoreferát, jsou na výborné úrovni. Nezbyvá než přát disertantce, aby byla takto úspěšná i v budoucnosti.

Závěrem lze tedy konstatovat, že disertantka plně vyhověla požadavkům kladeným na úroveň disertační práce, která završuje její postgraduální doktorandské studium, a proto doporučuji přijmout práci k obhajobě a navrhuji udělení příslušného vědeckého titulu.

V Praze 9. října 2017

prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.