



**Oponentský posudek doktorské disertační práce Mgr. Václava Navrátila
„Development of analytical tools for quantification and screening for inhibitors of GCP II and III“**

Doktorská disertační práce Mgr Václava Navrátila sestává z úvodního textu a příloh – čtyř separátů publikací z velmi kvalitních časopisů, na nichž se disertant spoluautorsky podílel. Formálně je práce velmi dobře a pečlivě formálně presentovaná, je přehledná, psaná dobrou angličtinou, čtenáři napomáhá seznam použitých zkratk. Velmi užitečným prezentačním instrumentem je rovněž autorem připravený rozšířený abstrakt (rovněž provázený kvantifikací vlastního spoluautorského podílu) provázející jednotlivé práce v přílohách disertace.

Multifunkční potenciál „melouchařicích“ proteas, jejichž biologický význam záleží na kontextu, exprimující tkáni či živočišném druhu akteré se navíc mnohdy různou měrou překrývají ve svých substrátových preferencích přináší nejen badatelskou výzvu ale rovněž řadu experimentálních a interpretačních obtíží. V úvodu autor předkládá velmi didaktický přehled charakteristik molekul zájmu, které do této skupiny patří: GCP II a III. Přehledně popisuje jejich vlastnosti, distribuci, lokalizaci, substráty, biologický významu a mechanismy jeho realizace, včetně jejich rozdílů, podobností a právě výše zmíněných překryvů. Tato state of the art část zahrnuje informace jak o studovaných molekulách, tak dosavadních analytických přístupech k nim. Ve svém celku je přesvědčivým východiskem pro dále popsané cíle disertace a otevírá téma biomedicínského potenciálu „analytických nástrojů“, umožňujících nejen vlastní analytické použití, ale i přípravu diagnostických, terapeutických či „teranostických“ intervencí na úrovni molekul zájmu. Úvodní část práce svými citačními zdroji též zároveň ilustruje významný a dlouhodobý přínos a špičkovou kompetenci (expertní a technologickou) petentova pracoviště pro tuto oblast výzkumu. Jsem přesvědčen, že i čtenář bez předchozí podrobné orientace v oboru dobře pochopí závažnost a význam problematiky, již se práce zabývá.

Vývoj spolehlivých a robustních analytických metod deklarovaný v prvních dvou cílech disertace přinesl cenné výsledky. Umožnil precízní charakteristiku řady vlastností (např substrátové preference) obou enzymů, vedl ke spolehlivému popsání druhové specifity orgánové distribuce GCP II a III (na úrovni templátů i – v případě lidské GCP III prioritně - proteinu), posouzení vhodnosti myšího materiálu pro studium GCPII a následnou komparaci výsledků s humánním materiálem a zároveň i k průkazu nevhodnosti využití sérové GCP II (s pravděpodobně extraprostatickým původem v séru/plasmě) jako markeru karcinomu prostaty člověka. Toto negativní zjištění se opírá o výsledky tří ortogonálních metod a lze je tak skutečně pokládat za prokázané. Předpokládám, že výsledky prvních dvou cílů by poskytly dostatek materiálu pro kvalitní obhajobu disertace.

Naplnění třetího cíle disertace, vývoj nové metody pro ultracitlivou detekci enzymů, ovšem činí předloženou disertaci zcela vyjímečnou. Vyvinutá originální metoda DIANA stojí na „duální specifitě“

(protilátka vůči analyzovanému enzymu a interakce s inhibítozem tohoto enzymu v detekční sondě) a vysoce citlivém reportérovém systému. Dosahuje až „zeptomolární“ citlivosti pro své vhodné analytické cíle, má široký lineární rozsah citlivosti, je vhodná i pro vzorky komplexních biologických materiálů, ale též pro testování a screening kompetitivních enzymových inhibitorů bez nutnosti dokonale purifikovaného enzymu v analýze, ale je též automatizovatelná a teoreticky extenzovatelná i pro další interakce založené na prostorovém mezimolekulárním rozpoznávání.

I ze zdrojů mimo tuto disertaci je již zjevné, že koncept DIANA zahájil mimořádně úspěšné aplikační tažení a to nejen v souvislosti s GCP II a III.

Práce jednoznačně naplnila všechny tři ve svém úvodu deklarované cíle, přinesla zásadní poznatky a přispěla k vývoji zcela originálního aplikačního konceptu z kategorie „first in the category“. Dokumentace spojená s disertací zároveň prokazuje široké propojení práce petenta s dalšími projekty jeho domovského pracoviště a dokládá další cenné autorské výstupy prezentované v podobě významných publikací ve vysoce prestižních časopisech.

Na základě zjevné závažnosti tématu a ZÁSADNÍHO přispění kandidáta k poznání v oboru s potěšením a bez výhrad DOPORUČUJI práci přijmout jako podklad pro udělení hodnosti PhD.

Pro diskusi předkládám následující otázky:

Jak si vysvětlujete rozdílné výsledky prací popisujících důsledky KO GCP II u myši?

V práci byly komparovány výsledky analýzy sérové GCPII a PSA u pacientů s karcinomem prostaty: Jaký je Váš názor na plošné využití PSA ve screeningu?

Existuje (třeba spekulativně) příklad biomedicínské aplikovatelnosti potenciálu DIANAY rozlišit enzymově aktivní a neaktivní izotyp analyzovaného enzymu?

Jaký je současný stav dalšího „aplikačního tažení“ instrumentu DIANA?



V Praze, 30.8.2018

Prof.MUDr. Aleksi Šedo, DrSc