



Oponentský posudek na disertační práci

Mgr. Eva Šafaříková

“Vlastnosti specifických protilátek prionových chorob a možnosti jejich využití”

Tématem disertační práce je vývoj nových imunanalytických přístupů pro detekci patologické formy prionového proteinu. Práce přináší významné výsledky ve dvou hlavních oblastech:

1/ Analýza glykovaného prionu: Byl připraven rekombinantní prionový protein a jeho chemicky glykovaná forma. Byly odvozeny monoklonální protilátky rozpoznávající tento derivát, charakterizována jejich specifita a testována využitelnost k analýze biologických vzorků.

2/ Analýza prionového fragmentu s C-terminální delecí: Byla vyvinuta imunometoda pro detekci tohoto fragmentu a analyzována jeho distribuce v biologických materiálech a dále byl fragment zhodnocen jako potenciální biomarker.

Celková experimentální práce a prezentovaná data jsou objemná a solidní; výsledky práce byly publikovány ve čtyřech oborových periodikách (s impact factorem v rozmezí 1,7 až 3,9), přičemž dvě publikace jsou prvoautorské. Projekt je metodicky bohatý a autorka měla možnost se seznámit s širokou škálou technik z oblasti proteinové chemie, analytické biochemie, molekulární genetiky a imunometod. Disertační práce má velmi přehledně zpracovanou kapitolu úvodu do problematiky s adekvátním počtem referencí a detailně mapuje zejména současný výzkum v oblasti detekce prionových proteinů.

Obecně disertace přináší nové významné informace o prionových chorobách a jejich diagnostice, které dobře zapadají do současného trendu zájmu o tuto problematiku a aplikace v medicíně. Autorka prokázala svoji schopnost samostatné vědecké práce. Z výše uvedených důvodů **doporučuji přijmout disertační práci k obhajobě vedoucí k udělení titulu PhD.**

K disertační práci mám několik poznámek a dotazů:

1/ Tabulka 1 (str. 32): V sekvencích prionových proteinů je C-terminální segment (u lidského prionu aminokyseliny 221-253) nazván “signální peptid”, ale jedná se spíše o propeptid. Označení signální peptid se používá pouze pro N-terminální segment (u lidského prionu aminokyseliny 1-22).

2/ Elektroforetická separace umožnila odlišit oxidovanou formu a redukovanou formu $rmPrP$ (lišící se disulfidovým můstkem). Na str. 65 se uvádí, že oxidovaná forma má vyšší elektroforetickou mobilitu, a na str. 66 (v legendě Obr. 17) nižší elektroforetickou mobilitu; které tvrzení je správné?

3/ Disertační práce se zabývá glykací prionového proteinu, která je jednou z kovalentních sacharidových modifikací na tomto proteinu (spolu s N-glykosylací a GPI kotvou).

a/ Jaké jsou současné informace o nekovalentních interakcích prionového proteinu se sacharidy jako jsou např. široce rozšířené glykosaminoglykany?

b/ Glykace prionového proteinu vede výsledně ke karboxymethylaci bazických aminokyselin, což mění náboj těchto aminokyselin pomocí zavedení kyselých karboxylových skupin. Tato změna by mohla výrazně ovlivnit citlivost glykovaných pozic k fragmentaci proteasami. Zabýval se již někdo touto otázkou?

4/ Disertační práce obsahuje výsledkovou kapitolu a sadu příložených publikací. Jak velká část výsledků z této kapitoly již byla publikována? Jaký je podíl autorky disertace na jednotlivých příložených publikacích?

V Praze dne 26. 2. 2015



RNDr. Michael Mareš, CSc.

Ústav organické chemie a biochemie AV ČR
Flemingovo nám. 2,
16610 Praha 6
Tel: 220 183 358
E-mail: mares@uochb.cas.cz