

# Posudek oponenta disertační práce

**Předkladatel:** Mgr. Maroš Huličiak

**Disertační práce:** Engineering and selection of protein binders recognising medically important cytokines

**Oponent:** Mgr. Zdeněk Kukačka, Ph.D.

**Pracoviště oponenta:** Mikrobiologický ústav AV ČR, v.v.i.

## Text posudku:

Disertační práce Mgr. Maroše Huličiaka se zabývá studiem a vývojem nové metodiky přípravy vazebných molekul tzv. scaffoldů, jež interagují s biologicky významnými cytokiny a jejich receptory a to konkrétně s interleukinem-10, receptorem interleukinu-28 a alfa receptorem interleukinu-9.

Práce je standardně členěna na teoretický úvod, cíle, výsledky, diskusi a závěr. V teoretickém úvodu ve třech kapitolách autor čtivě a detailně popisuje nejprve nejvýznamnější zástupce interleukinů, dále proteinové vazebné molekuly a nakonec selekční displejové metody studia proteinů. Jednotlivé kapitoly jsou psány vždy s důrazem na proteiny či metody použité v předkládaných publikacích a ve světle současného poznání. Teoretický úvod je přehledně zpracován a vhodně doplněn několika ilustracemi většinou převzatými z jiných publikací. Metodická část práce chybí, ale vzhledem k faktu, že jsou veškeré použité metody popsány v přiložených publikacích, nelze to považovat za chybu.

Výsledková část pak obsahuje sérii jednotlivých obrázků s popisky ale bez dalšího komentáře. Hlavní výsledky práce jsou komentovány až v diskusi. Proto bych považoval spíše za vhodnější tyto sekce sloučit do jedné tak, aby se čtenář nemusel kvůli jednotlivým diskutovaným obrázkům v textu vracet. V diskusi předkladatel rozebírá výsledky a teze jednotlivých předkládaných publikací v kontextu dalších zjištění a informací z literatury. Hlavní dosažené výsledky jsou nakonec shrnuty v závěru práce.

Práce je doplněna odkazy na téměř 170 zdrojů literatury. Tento přehled dokazuje, že předkladatel čerpal z velkého množství informací a používal především zdroje původní, nikoli sekundární. Citace uvnitř textu jsou velmi konzistentní

Jazykovou stránku práce považuji za zdařilou. Autor volí spíše krátká souvětí, což čtenářovi usnadňuje pochopení textu. Bohužel předkládaná disertační práce obsahuje i několik gramatických a stylistických chyb (např. 1.2.5), nicméně ty neubírají na kvalitě práce.

Z pohledu věcného hodnotím práci pozitivně. Je založena na množství dobře odvedené experimentální práce, která je shrnuta ve třech publikacích v recenzovaných periodikách s impakt faktorem, z nichž poslední je předkladatelova prvoautorská. Téma práce navíc pokládám za velmi aktuální a biologicky významné. Autor jednoznačně prokázal schopnost zvolit vhodnou strategii k řešení zadané problematiky, zvládnout a zdokonalit potřebnou metodiku a kriticky zhodnotit dosažené výsledky v kontextu současného poznání. Předkládanou práci Mgr. Maroše Huličiaka považuji za kvalitní a po detailním posouzení dle mého názoru splňuje požadavky na práci disertační a proto ji doporučuji k obhajobě.

K práci mám 4 doplňující otázky.

- 1) Jedním z kritérií výběru proteinových struktur z databáze PDB bylo i nízké zastoupení cysteinů a disulfidových můstků. Můžete více specifikovat toto kritérium? Jaký byl limit na definovaný počet aminokyselin nebo definovanou velikost proteinu?

- 2) Při afinitním měření interakcí Ile-10 s ProBi-wt (57aBi) a jeho dalšími variantami pomocí thermoforézy jste použili dva různé pufrací systémy (Tris a HEPES) o různých pH (8,0 a 7,5). Proč?
- 3) Nevýhodou vazebných proteinů oproti protilátkám je relativně vysoká renální clearance, tedy rychlé vyloučení z organismu. Vybírali jste kandidáty pro přípravu vazebných proteinů i s ohledem k možnému prodloužení této doby? Jakým způsobem by se případně dala délka doby oběhu těchto molekul v těle prodloužit?
- 4) V publikovaných článcích jste využívali k výběru vhodných vazebných molekul metody „ribosome display“ nebo jeho kombinaci s „yeast display“. Mohl byste shrnout její výhody oproti selekci *in vivo*?

V Praze 20.1.2023

Mgr. Zdeněk Kukačka, Ph.D.