

Posudek disertační práce Mgr. Maroše Huličiaka

Maroš Huličiak předkládá disertační práci s názvem "Engineering and selection of protein binders recognizing medically important cytokines". Práce byla vypracována v laboratoři Prof. Bohdana Schneidera v Biotechnologickém ústavu AVČR a je předložena ve formě sebraných publikací. V práci jsou presentovány výsledky tří publikací, v jedné z nich (přijaté do FEBS Journal) je Maroš Huličiak prvním autorem. Další 2 práce byly publikovány v časopisech Viruses (MDPI) a FEBS Journal. Publikace jsou zaměřené na vývoj a testování tzv. scaffoldů - vazebných motivů, krátkých polypeptidových řetězců, které se selektivně a s vysokou afinitou váží na cílený protein a mohou tak nahrazovat funkci specifických protilátek. Tyto vazebné motivy se mohou využívat k blokování funkcí důležitých buněčných proteinů, např. receptorů a dalších proteinů, které fungují v rozvoji virových infekcí či nádorového bujení a dalších onemocnění.

Práce je sepsána v anglickém jazyce, obsahuje úvodní část, která na 22 stránkách přináší přehled o metodách využívaných při vývoji vazebných motivů, popisuje i současné studie vyvinutých vazebných motivů v klinických testech. Nedílnou součástí těchto metod jsou i selektivní metody, jako je kvasinkový a bakteriální selekční systém, *in vitro* ribosomový a mRNA systém, které jsou v úvodu také popsány. Zároveň je úvod věnován i popisu cílených proteinů v těchto studiích, tedy různým interleukinům a jejich receptorům

Tato práce je metodická, vyžaduje kombinování metod z oblasti molekulárního modelování, strukturní analýzy, zpracování dat, přípravy cDNA knihoven, řízené mutagenese, exprese a heterologní produkce proteinů, fyzikálních metod využívaných při studiu interakce proteinů a ligandů, imunochemické detekce i práce s buněčnými kulturami.

Práce dále obsahuje kapitolu výsledků, kde jsou shrnuty výsledky předložených publikací a jsou v krátkosti diskutovány. Tato část také spojuje a vysvětluje návaznost jednotlivých publikací. Je zde diskutována i perspektiva a možné optimalizace metod k získání účinných vazebných motivů.

K předložené práci bych měla několik dotazů.

1. Při vývoji vazebných motivů jste vycházeli z publikovaných strukturních motivů a získali jste struktury, které byly selektivně vyvíjeny s ohledem na buněčný cíl. Jak se lišil optimalizovaný strukturní motiv od výchozího? Jsou v motivech nějaké konservované strukturní segmenty, které se nemění v závislosti na testovaném cíli?
2. Zohledňujete při výběru počátečních publikovaných vazebných motivů pro optimalizaci také strukturu a funkci cíleného buněčného proteinu?

3. Testujete prostupnost vazebných motivů do buněk, např. při experimentech s myší buněčnou linií (RAW264.7)
4. Jaké jsou perspektivy vývoje zcela nových templátů (strukturních motivů) pro další optimalizaci?

Závěrem mohu konstatovat, že kvalita předložené práce splňuje požadavky kladené na disertační práci a doporučuji ji přijmout k obhajobě.

V Praze dne 20.1. 2023

Ing. Iva Pichová, CSc.