

## Posudek oponenta

na disertační práci **Mgr. Zuzany Matouškové**  
s názvem

### Charakterizace proteinů interagujících s proteolytickým systémem klíšťat

Předložená disertační práce je sepsána nyní převažující formou, tedy jako komentář k souboru publikací. Je založena celkem na čtyřech publikacích, kde je disertantka spoluautorkou, z toho ve dvou případech první autorkou. Práce má celkem 139 stran (včetně příloh a "technických" pasáží). Poměrně rozsáhlý je "Literární přehled" (33 str.), v němž autorka uvádí čtenáře do problematiky proteas, jejich inhibitorů, jakož i do biologie klíšťat. Následují stručné oddíly "Cíle disertační práce" a "Materiál a metodika". V další části textu jsou stručně (2-3 str.) komentovány jednotlivé publikace, následuje závěrečná diskuse (7 str.), celkový závěr práce a seznam citované literatury (celkem 177 citací). Kontrola originality práce programy Theses a Turnitin sice vykazala celkově relativně vyšší hodnoty shody (41, resp. 35%), ale jde buď o velmi krátké pasáže "technického" charakteru (poděkování, jednotlivé fráze v obsahu či metodice), nebo o "shodu" s publikacemi, které jsou reprodukovány v příloze (program Theses). Práci je tak možno považovat jednoznačně za originální.

Disertace se věnuje výzkumu a charakterizaci proteinových inhibitorů proteolytických enzymů ze slin klíšťat. Použité metodiky molekulárně biologické, biochemické i biofyzikální jsou moderní a plně adekvátní cílům práce, které se podařilo splnit.

V prvé komentované publikaci jde o cystatin z klíšťáka *Ornithodoros moubata*, v dalších třech publikacích jsou zkoumány inhibitory ze slin klíšťete obecného *Ixodes ricinus* - v publikacích 2 a 3 jde o nově popsany proteinový inhibitor, serpin 2, který se podařilo krystalizovat a dále analyzovat. Také v publikaci č. 4 jde o nově získaný a charakterizovaný inhibitor, thyropin, označený jako IrThy. **Pro všechny komentované práce uvádí autorka konkrétně, v čem byl její tvůrčí přínos.** Všechny tyto práce byly publikovány v mezinárodních časopisech s vysokým impaktním faktorem a přesvědčivě tak ukazují, že si disertantka osvojila zásady vědecké práce a byla schopna získat cenné, mezinárodně uznávané výsledky. Je vhodné v této souvislosti ještě podotknout, že příložený životopis uvádí ještě další tři publikace disertantky, které se věnují tématice disertace. Je tedy možno konstatovat, že disertantka, Mgr. Z. Matoušková, splňuje požadavky pro získání titulu Ph.D. a její disertaci lze doporučit k obhajobě a dalšímu řízení.

K práci mám několik drobnějších připomínek, které nijak zásadněji nesnižují její celkově výbornou úroveň.

1. V některých formulacích se objevují drobné chyby či nepřesnosti, které mohou i snižovat srozumitelnost textu např.:

- "... cystatiny, které cílí cysteinové proteasy ..." (str. 13 a znovu na str. 14; pravděpodobně "na cysteinové proteasy"),
- "*Mechanismus inhibice serpinů ...* " (str. 20, asi "inhibice serpinu"),
- "*Trávení probíhá ... v lysozomech střevních buněk, kde je kyselé prostředí a využívají repertoár ...*" (str. 28, vhodněji např. "střevních buněk klíšťete /v předchozí větě je řeč o hostiteli/, kde je kyselé prostředí a které využívají repertoár ..."; jednoznačně bych se zde i jinde - přimlouval za správný pravopis **lyzosom** (popř. **lysosom**, v krajním případě snad i lyzozom, nikdy lysozom),

- nešťastně je "roztržen" popisek k obr. 2.3 (mezi str. 14 a 15). Poslední věta popisu: "*Upraveno podle (PDB kód: 1CBW).*" je nejednoznačná. Má mít smysl: "PDB kód: 1CBW, upraveno." nebo (podobně jako u následujícího obr. 2.4.) "Upraveno podle<sup>CIT</sup>, PDB kód 1CBW" ?

**Je třeba zdůraznit, že takovýchto míst je v práci opravdu jen velmi málo.**

2. Moje "staromilství" mi nedá, abych se nezmínil o používání "progresivního pravopisu" (ač uznávám, že jde do určité míry o věc vkusu): Přimlouvám se za pravopis, který odráží aspoň v principu etymologii těchto názvů a je v souladu s mezinárodní biochemickou nomenklaturou. kromě již zmíněného *lyzozomu* jde také např. o *kathepsin* nebo *thyropin*.

3. Pozitivně hodnotím uvedení akronymů databází (MEOPS, PDB) v seznamu zkratk. Co mi zde naopak trochu schází, je uvedení verze ("Release") a odkaz na příslušnou literaturu (autory obvykle požadovaný, jako jediná "odměna" za používání databáze). (V disertaci jde o citaci 40, není ale na ni odkazováno prakticky nikde, kde je databáze MEROPS zmíněna.)

4. Vysvětlení rozdílu mezi "inhibicí tvorbou pevného Michaelisovského komplexu" (mechanismus 1; str. 14) a "inhibicí stericým bráněním" (mechanismus 3, str.16) není příliš instruktivní ani přesvědčivé: pokud se totiž "*vytváří klín komplementární s aktivním místem proteasy, čímž blokuje vstup substrátu do aktivního místa*", není jasné, v čem se tento mechanismus liší od vazby "*inhibitoru do aktivního místa podobným způsobem jako substrát*" (str.14). Moc nepomáhají ani příslušné obr. 2.3 a 2.5.

Mám v této souvislosti na disertantku **otázku**: Čím se odlišují tyto dva mechanismy a jak je možné je od sebe rozlišit experimentálně?

**Ještě než přejdu k dalším otázkám k obhajobě, rád bych znovu zdůraznil své kladné hodnocení disertace. Plně ji doporučuji k obhajobě a dalšímu řízení k získání titulu Ph.D.**

**Otázky k obhajobě:**

1. V práci se disertantka několikrát dotýká potenciálu inhibitorů jako léčiv, popř. ochranných látek proti parazitům, sajícím krev hostitele. Existují již nějaké komerční přípravky (humánní nebo veterinární), které jsou založeny na tomto konceptu?

2. V kapitole 2.2.3.1. je dosti podrobně popsán osud proteinového řetězce hemoglobinu hostitele po nasátí krve klíštětem. Jak je tomu s osudem hemu? (Byl bych si to našel, ale v práci se sice píše "*Degradace hemoglobinu byla podrobně popsána u klíštěte (I. ricinus).*" ale žádná citace přímo uvedena není; hem není zmíněn ani na obr. 2.12, a ani v dalším textu oddílu 2.2.3.1.

V Praze, 6. 5. 2024

prof. RNDr. Jiří Hudeček, CSc  
kat. biochemie PřFUK