

**Oponentský posudek na bakalářskou práci „Možnosti využití programovatelných nukleáz pro genovou terapii HIV pozitivních pacientů“**

Autor bakalářské práce: Libor Hejduk

Předložená bakalářská práce se zabývá problematikou genové terapie HIV pozitivních pacientů s využitím tzv. programovatelných nukleáz, které představují nový a perspektivní nástroj molekulární genetiky, vhodný zejména pro metodické přístupy spojené s místně řízenou mutagenezí. Tyto proteiny se specificky vážou na cílovou sekvenci DNA pomocí motivu zinkových prstů a umožňují štěpit molekulu DNA na přesně určeném místě. Tento přístup umožňuje editaci cílové DNA s potenciálním využitím pro genovou terapii infekčních, nádorových či autoimunitních chorob.

Bakalářská práce je obsáhlou a tématicky ucelenou literární rešerší čerpající z recentní i starší literatury a obsahuje více než 80 literárních citací založených jak na původních experimentálních pracích, tak na přehledných člancích. Je rozdělena do 6 kapitol. Textová část je zpracována přehledně, doplněna názornými schémata a svědčí o zájmu autora o dané téma.

První kapitola je věnována detailnímu popisu strukturních a funkčních aspektů programovatelných nukleáz, zejména pak popisu motivu zinkových prstů a proteinů a proteinových komplexů s nukleázovou aktivitou, založených na interakci motivu zinkových prstů s cílovou DNA. Druhá část předložené práce je zaměřena na popis stavby virionu HIV, popis hlavních proteinů a genomu viru HIV, dále se zabývá farmakoterapeutickými aspekty a klinickým průběhem infekce HIV a v neposlední řadě také genovou terapií HIV pozitivních pacientů.

Mezi slabší stránky této bakalářské práce patří fakt, že autor věnuje tématice genové terapie HIV pozitivních pacientů relativně malou pozornost, tato tematika je řešena pouze v závěru teoretické části a je poměrně málo rozvedena. Naopak zbytečně velký důraz je kladen na popis a charakterizaci viru HIV a na popis průběhu a symptomů infekce. Další nedostatek se týká kapitoly 1.4 CRISPR/Cas systém. Zde se autor nezmiňuje o struktuře proteinů CRISPR/Cas systému a není tedy jasné, jak tyto souvisejí s rodinou programovatelných nukleáz, případně, čím se od nich liší. Dále je třeba vyvarovat se některých nepřesných formulací, např. „konjugací mobilních elementů jako např. plasmidů“ (str. 6). Z formálních nedostatků bych uvedl jazykovou nejednotnost v nadpisech některých

kapitol; některé kapitoly nesou české názvy, jiné mají původní anglické označení (např. 1.2. Zinc fingers atd.).

Přes tyto drobné nedostatky je práce kvalitní rešerší, zejména po odborné stránce, a proto ji doporučuji k obhajobě a hodnotím ji stupněm „výborně mínus“. Na autora bych měl následující dotazy, jejichž případné nezodpovězení nijak neovlivní hodnocení práce.

1. Vysvětlete vztah CRISPR/Cas systému k rodině programovatelných nukleáz (zejména strukturní podobnost/odlišnost s TAL proteiny atd.).
2. Jak se nazývají mobilní elementy odvozené z retrovirových genomů, které hrály/hrají významnou roli v evoluci eukaryotických genomů?
3. Byly popsány některé nežádoucí účinky po aplikaci geneticky modifikovaných lymfocytů podávaných HIV pozitivním pacientům? Jsou k dispozici údaje hodnotící bezpečnost metody?

V Brně, dne 15. 1. 2015

Mgr. Luděk Eyer, Ph.D.

