

Posudek disertační práce Mgr. Barbory Kašákové

„Structural insights into the salivary serpins of *Ixodes ricinus*“

Disertační práce Mgr. Barbory Kašákové „Structural insights into the salivary serpins of *Ixodes ricinus*“ je zaměřena na krystalografickou analýzu struktury vybraných proteinů ze skupiny serpinů, inhibitorů serinových proteáz, využívaných klíšťaty při napadení hostitelského organismu. Vlastní výzkum realizovaný autorkou se zabývá krystalizací proteinů, sběrem krystalografických dat a jejich zpracováním. Výstupem výzkumu a podkladem pro disertační práci jsou dvě odborné publikace prezentované v renomovaných odborných časopisech – *Frontiers in Immunology*, a *Acta Crystallographica, Section D*, jedna publikace byla odeslána k recenzi do časopisu *FEBS Journal*, čtvrtá publikace je ve formě připravovaného manuskriptu. Tři z publikací jsou prvoautorské.

Disertační práce má celkový rozsah 174 stran a je tvořena hlavními kapitolami *Introduction, Material and Methods, Results and Discussion, Conclusion a References*, a je psána v anglickém jazyce.

Kapitola *Introduction* stručně uvádí čtenáře do problematiky výskytu serpinů v přírodě, jejich strukturního uspořádání i mechanismu působení. Kapitole, coby úvodu k disertační práci, poněkud schází konkrétnější specifikace cílů práce, a také informace o zasazení výsledků disertační práce do výzkumu realizovaného na školitelském pracovišti.

Kapitola *Material and Methods* se spíše v obecné rovině věnuje popisu postupů používaných pro krystalizaci proteinů, realizaci krystalografických experimentů a zpracováním krystalografických dat až do stadia finální struktury. Autorka mohla být poněkud konkrétnější a sdílnější stran přístrojového vybavení používaného k výzkumu.

Klíčovou částí disertace je kapitola *Results and Discussion*, která formou publikovaných, respektive k publikaci připravovaných prací prezentuje dosažené výsledky. Kapitola je tedy spíše přehledem a diskusí výsledků dosažených v rámci rozsáhlejšího výzkumu. Reálná, čistě disertantčina diskuse nejen finálních výstupů, ale i možných a zvolených experimentálních postupů, případných negativních výsledků, a podobně, chybí. Takto prezentovaná diskuse by jistě poskytla mnohem lepší informace o disertantčině porozumění problematice, schopnosti hledat či navrhnout řešení, tato řešení realizovat, případně hledat jejich alternativy, vyvozovat závěry, a podobně, než procentuální vyjádření jejího podílu na publikačním výstupu. Nenaznačuje je ani kapitola *Conclusion*, která je pouze stručným přehledem některých závěrů.

Co se odborného výstupu týče, výzkum realizovaný uchazečkou nepochybně přináší rozšíření poznání v oblasti struktury i funkce proteinů v organismech. Zčásti také prošel jistě náročným recenzním řízením v renomovaných odborných časopisech, což dokládá jeho kvalitu i novost. Práce je také dobře zpracována po formální i grafické stránce. Uchazečka dle mého názoru prokázala schopnost samostatně tvůrčí vědecké práce v oblasti strukturní analýzy biomakromolekul, a proto disertační práci doporučuji k obhajobě.

K práci mám následující dotazy:

1. V úvodu věnovaném serpinům autorka zmiňuje jejich souvislost s celou řadou onemocnění. Do jaké míry byla tato souvislost prokázána, a jakou konkrétní roli serpiny hrají například při jaterní cirhóze?
2. Základem prezentovaného výzkumu je monokrystalová difrakční analýza. Jaké jsou v dnešní době k dispozici alternativní metody strukturní analýzy velkých molekul? Je možné strukturu biomakromolekul studovat v podobě „nativnější“ než je krystal?
3. V kapitole 1.3.2 je zmiňována polymerace serpinů. Co polymeraci způsobuje? Z kolika monomerních jednotek může být výsledný polymer složen?
4. Kolik krystalizačních experimentů bylo celkem provedeno? V jakém intervalu se pohybovaly časové nároky krystalizačních experimentů?
5. Součástí manuskriptu odeslaného do FEBS Journal není Supporting Information. Nebyly doplňující informace potřeba nebo jen nejsou součástí disertační práce.
6. V jakém stádiu je příprava publikace *Crystal Structure of Ixodes Ricinus Serpin Iripin-1*? Bude se jednat o čistě krystalografickou práci?

V Olomouci 23. 5. 2022

doc. RNDr. Michal Čajan, Ph.D.