

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Kateřiny Mikulíkové „Posttranslační modifikace proteinů – jejich analýza a fyziologické aspekty“

Po zdárném ukončení projektu lidského genomu se současný molekulárně biologický, biochemický a medicínský výzkum zaměřuje na kvalitativní a kvantitativní analýzu všech proteinů příslušného organismu, na oblast proteomiky. Její nedílnou součástí je studium posttranslačních modifikací daných proteinů. A právě do této oblasti spadá odborný záběr disertační práce Mgr. Kateřiny Mikulíkové. Zaměřila se přitom na důležitou posttranslační modifikaci, kterou je tzv. glykace t.j. neenzymová modifikace základního skeletu bílkovin cukernými zbytky. Její studie je především orientována na nejrozšířenější protein lidského organismu, kterým je fibrilární kolagen, u kterého jsou vzhledem k pomalému metabolickému obratu dané modifikace charakteristickým rysem probíhající ontogeneze, případně patologických stavů. Druhým zástupcem studovaných proteinů je globulární protein lidský albumin, který představuje nejrozšířenější protein plazmy a plní v ní celou řadu důležitých funkcí.

Písemná práce přináší ve svém teoretickém úvodu podrobnou charakterizaci studovaných proteinů. Hlavní pozornost je přitom věnována kolagenu, a to i s ohledem na jeho strukturální a funkční rozmanitost. Je zde popsána jeho struktura a následně jeho jednotlivé typy, a podrobně pak posttranslační modifikace, které se u něj uplatňují. Následuje experimentální část, kde jsou jednotlivé experimenty velice podrobně popsány. Posloupnost jednotlivých etap vlastní experimentální práce přitom svědčí o orientaci doktorandky v dané problematice. V první části se doktorandka věnovala *in vivo* pokusům, kde pracovala s potkany jako modely hypertenzních organismů s doprovodnými poruchami metabolismu sacharidů a lipidů, přičemž byla sledována koncentrace produktu posttranslační modifikace pentosidinu v závislosti na složení potravy. Druhá mnohem rozsáhlejší část je věnována pokusům *in vivo* kdy jsou glykace modelových proteinů různými látkami analyzovány především pomocí moderních separačních metod – vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) a kapilární elektroforézy (CE), a to i v kombinaci s detekcí hmotnostní spektrometrií (MS). V obou částech byly přitom dosaženy velice dobré výsledky, které jsou dostatečně diskutovány a jsou z nich vyvozeny odpovídající závěry. V mnoha případech přitom jde o unikátní výsledky neboť taková komplexní studie za využití komplementární technik HPLC a CE v kombinaci s MS ještě nebyla na daných proteinech provedena.

K vlastní písemné části, která osahuje minimum chyb a překlepů, bych měl několik připomínek :

- str. 29 – mohla byste podrobněji vysvětlit větu „Prvním kolagenním typem, který se vyskytuje v ontogenezi je kolagen I“.
- str. 43 – nejsou v rozporu věty „Dřívější studie dokazují, že pentosidin je ve velké míře nahromaděn v tkáních podléhajících stárnutí a jeho tvorba v těchto tkáních urychluje průběh diabetu mellitus a urémii. Dále studie ukazují pentosidin jako glykooxidační marker pokročilé Maillarsovy reakce stárnutí, diabetu mellitus a urémii.“ ?
- str. 47 – opravdu se konjugát pyralinu používá jako monoklonální protilátka ?
- str. 54 – jaké znáte typy gelové permeační chromatografie ?
- str. 55 – opravdu je zde míněna „polyakrylamidová gelová elektrochromatografie“ ?
- str. 66 – měl by být uveden typ použité Coomassie Brilliant Blue.

Práce má pěknou celkovou úpravu a proto vzhledem ke skutečnosti, že dosažené výsledky byly již publikovány, případně jsou přijaty k publikaci ve velmi kvalitních časopisech a prošly tedy přísným oponentním řízením, měl bych pouze jedinou otázku:

Mohla by doktorandka říct, který výsledek ze své práce považuje z medicínského hlediska za nejdůležitější a proč?

Uvedené připomínky a dotaz se netýkají vlastní podstaty práce. Publikace v renomovaných časopisech, které z ní vzešly, svědčí o kvalitě výsledků a potvrzují mimořádnou schopnost Mgr. Mikulíkové k experimentální vědecké práci. Vzhledem k tomu, že cíle práce byly v plném rozsahu splněny, doporučuji, aby tato byla přijata za základ dalšího řízení a po úspěšné obhajobě byl Mgr. Mikulíkové udělen titul doktor (PhD).



V Brně 29. 8. 2007

doc. RNDr. Z. Glatz, CSc

Ústav. biochemie př.f.MU Brno