

STANOVISKO HABILITAČNÍ KOMISE K NÁVRHU NA JMENOVÁNÍ DOCENTEM

Masarykova univerzita

Fakulta

Přírodovědecká fakulta

Obor řízení

Biomolekulární chemie

Uchazeč

Mgr. Pavel Plevka Ph.D.

Pracoviště uchazeče, instituce

CEITEC – Masarykova Univerzita

Habilitační práce

Virion Structures and Genome Release Mechanisms of Picorna-like Viruses

Složení komise

Předseda

prof. RNDr. Vladimír Sklenář, DrSc.
CEITEC, Masarykova univerzita, Brno

Členové

prof. RNDr. Libor Grubhoffer, CSc.
BC AV ČR, České Budějovice

prof. RNDr. Julius Lukeš, CSc.
BC AV ČR, České Budějovice

prof. RNDr. Tomáš Obšil, Ph.D.
PřF UK v Praze

prof. Mgr. Marek Šebela, Dr.
UP Olomouc

Hodnocení vědecké kvalifikace uchazeče

Kariéra Pavla Plevky je zaměřena na strukturní charakterizaci virů a jejich infekčních procesů. Dr. Plevka je držitelem magisterského titulu v oboru "Molekulární biologie a virologie" z Karlovy Univerzity. Jeho magisterská práce, vypracovaná pod vedením prof. Jitky Forstové, byla zaměřena na "Vliv infekce polyomaviru na cytoskelet a distribuci jaderných proteinů".

V průběhu PhD studia se dr. Plevka nadále věnoval studiu virů, jeho primární výzkumnou technikou se však stala proteinová krystalografie. Pracoval pod vedením prof. Larse Liljase na Uppsala University ve Švédsku. Jeho PhD práce byla zaměřena na strukturní charakterizaci virionů a kapsid malých pravidelných virů "Structure of Small Icosahedral Viruses". Pracoval s technikami pro určení virové struktury: pomnožování virů, krystalizace, sběr a analýza difrakčních dat, techniky výpočtu fázových úhlů, a stavba a zpřesňování molekulárních struktur. V rámci PhD vyřešil Dr. Plevka krystalové struktury rostlinného viru ryegrass mottle plant virus, bakteriofága ϕ Cb5, a oktahedrální struktury kapsidového proteinu bakteriofága MS2. PhD tezi Dr. Plevka obhájil jako první autor čtyř publikací.

Aby si rozšířil svoje znalosti metod strukturní biologie, rozhodl se Dr. Plevka pro postdoktorskou stáž v laboratoři prof. Michael G. Rossmanna na Purdue University ve Spojených

Státech. Ve skupině prof. Rossmanna dr. Plevka vyžil svých znalostí krystalografie a vyřešil struktury echoviru 7 a minute virus of mice, pro jejichž difrakční data nebylo možno několik let vypočítat fázové úhly. Pracoval také na určení struktury parvoviru infikujícího bource morušového, kde prokázal nezbytnost přesného definování molekulární obálky, která je využívána při výpočtu fázových úhlů. Jedním z hlavních projektů, na kterých dr. Plevka pracoval během svojí post-doktorské stáže bylo určení struktury lidského enteroviru (EV) 71. Nalezení krystalizačních podmínek bylo komplikováno nízkými výtěžky při izolaci viru. Proto dr. Plevka vyvinul speciální set testovacích podmínek založený na kombinaci chemikálií, které byly dříve úspěšně použity pro krystalizaci jiných pikornavirů. To umožnilo získat krystaly EV71 přestože bylo vyzkoušeno pouze 40 podmínek. Následné vyřešení krystalické struktury bylo komplikované, protože středově centrované orthorhombické prostorové grupy I212121 a I222 nebylo možné rozlišit na základě systematických absencí a obě varianty musely být testovány pro molekulární nahrazení. Navíc nebylo možné určit orientaci virových částic v krystalu pomocí rotační funkce nebo ikosahedrálně fixované rotační funkce. Tyto problémy dr. Plevka vyřešil pomocí speciální fixované rotační funkce, která zahrnovala pouze pětičetné osy ikosahedrální symetrie a nebyla tak ovlivněna symetrií krystalu. Článek popisující strukturu EV71 byl publikován v prestižním časopise Science.

Ve skupině prof. Rossmanna se dr. Plevka naučil používat metodu kryo-elektronové mikroskopie (cryo-EM) pro výpočet struktur makromolekul s vysokým rozlišením. Určil strukturu echoviru 7 a jeho komplexu s buněčným receptorem DAF. Struktura komplexu umožnila identifikaci aminokyselin viru a receptoru, které jsou nezbytné pro jejich společnou vazbu. Dále použil metodu kryo-elektronové tomografie (cryo-ET) ke studiu re-organizace obalových glykoproteinů ke které dochází při zrání viru horečky dengue. Dr. Plevka vymyslel nový přístup pro určení pozice a orientace virových částic v tomogramu a implementoval ho ve vlastním programu. V publikaci v EMBO Reports dr. Plevka ukázal, že re-organizace glykoproteinů viru dengue začíná z nukleárního centra a šíří se po povrchu partikule jako "mexická vlna".

V roce 2013 založil dr. Plevka Skupinu Strukturní Virologie v institutu CEITEC Masarykovy Univerzity. Během sedmi let se stal hlavním řešitelem ERC-starting grantu; EMBO-installation grantu; juniorského, dvou standardních a EXPRO grantu GAČR; a ERC-CZ-consolidator grantu. Výzkum dr. Plevky je zaměřen na strukturní charakterizaci virů a jejich replikace s pomocí cryo-EM, cryo-ET a X-ray krystalografie. Dr. Plevka byl první, kdo použil cryo-EM k určení struktury makromolekul v České republice. Výzkum vedený dr. Plevkou je možné rozdělit do čtyř tematických okruhů:

(i) Lidské pikornaviry: Po příchodu na CEITEC dr. Plevka a jeho tým použili krystalografii k určení struktur lidských pikornavirů ze skupin, které nebyly dříve strukturně charakterizovány – parechovirus 1, saffold virus 1 a aichi virus 1. U parechoviru 1 dr. Plevka prokázal, že částí jeho jedno-vláknového RNA genomu specificky interagují s kapsidovými proteiny a tvoří enkapsidační signál, který může iniciovat sestavování virových částic. Saffold virus 1 reprezentuje první strukturně charakterizovaný lidský cardiovirus, původce srdečních onemocnění. Dr. Plevka a jeho skupina ukázali, že tento virus má neobvyklý mechanismus uvolnění genomu, který nevyužívá otvorů kolem os ikosahedrální symetrie kapsidy. Aichi virus 1 je patrně nejrozšířenější lidský virus – protilátky proti němu má více než 90% dospělé populace. Výzkum dr. Plevky ukázal, proč jsou jeho částice stabilní a umožňují viru efektivní šíření.

Dr. Plevka a jeho spolupracovníci použili techniku cryo-EM, aby identifikovali mechanismus, jakým enteroviry uvolňují svůj genom z virových částic. Navzdory předchozím spekulacím o infekčních mechanismech těchto virů ukázal, že se proteinová kapsida viru široce otevře, její části se v některých případech odtrhnou, a to umožní rychlé uvolnění celého genomu. Výsledky dr. Plevky vysvětlují, proč RNA genom virů není v průběhu uvolnění z částice citlivý na degradaci RNázami. Tyto výsledky byly publikovány časopise Nature Communications.

(ii) Včelí viry z rodin *Dicistroviridae* a *Iflaviridae*: Dr. Plevka a jeho skupina otevřeli pole strukturní biologie včelích virů. Ve třech publikacích v časopise PNAS dr. Plevka a jeho tým popsali struktury a mechanismus uvolnění genomu viru deformovaných křídel, viru pomalé paralýzy včel a viru váčkovitosti plodu, kteří jsou hlavními původci virových kolapsů včelstev. Ukázali, že jeden z kapsidových proteinů viru deformovaných křídel a pomalé paralýzy včel na C-konci zahrnuje "vystupující" doménu umístěnou na povrchu viru. Tato doména obsahuje katalytickou triádu tvořenou aminokyselinami Asp, His a Ser, které jsou konzervované i u dalších iflavirů. Toto potenciálně aktivní místo může mít funkci ve vazbě viru na receptor nebo ve štěpení membrány buňky, tak aby virus mohl doručit svůj genom do cytoplasmy. Pro virus deformovaných křídel dr. Plevka a jeho skupina určili, že kapsida tvoří specifické vazebné místo pro část RNA genomu. Dr. Plevka a jeho tým dále ukázali, že kyselé pH indukuje uvolnění genomu iflavirů, což nepřímo ukazuje, že tyto viry vstupují do buněk endocytózou. Je pozoruhodné, že struktura viru váčkovitosti plodu se výrazně liší od viru deformovaných křídel a viru pomalé paralýzy včel. Proteiny viru váčkovitosti plodu neobsahují vystupující domény, místo nich je povrch viru dekorován 60ti kopiemi malého kapsidového proteinu. Dr. Plevka a jeho skupina ukázali, že tento malý kapsidový protein dokáže narušit integritu membrán a umožňuje doručení virové RNA do cytoplasmy buněk. Identifikace oblastí kapsid důležitých pro interakci s genomem virů a aktivních míst nezbytných pro penetraci buněčných membrán umožňuje vývoj proti-virových látek inhibujících tyto nezbytné funkce včelích virů.

(iii) Virus klíšťové encefalitidy: V článku publikovaném v časopise Nature Communications dr. Plevka a jeho spolupracovníci prezentovali strukturu infekční částice viru klíšťové encefalitidy a mechanismus jeho neutralizace monoklonální protilátkou. Klíšťová encefalitida je závažné onemocnění, které postihuje kolem 13 000 lidí ročně. Doručení genomu viru klíšťové encefalitidy do cytoplasmy závisí na fúzi membrán viru a buňky, která je indukována obalovými proteiny viru v kyselém pH. Struktura viru klíšťové encefalitidy ukazuje, že odpudivé interakce postranních řetězců histidinů indukují rozpad hetero-tetramerů obalových a membránových proteinů a indukují jejich uvolnění z membrány viru, které podmiňuje následnou fúzi membrán. Fab fragmenty protilátky 19/1786 se vážou na 120 ze 180 obalových glykoproteinů virové částice. Dr. Plevka a jeho spolupracovníci ukázali, že na rozdíl od dříve studovaných protilátek působících proti flavivirům, Fab fragmenty protilátky 19/1786 nezamknou virus v nativní konformaci, ale brání jeho fúzi s buňkou.

(iv) Bakteriofágy infikující *S. aureus*: Výzkum dr. Plevky zaměřený na charakterizaci fágových infekcí zlatého stafylokoka má za cíl přispět k vývoji fágové terapie. Strukturní charakterizace bakteriofága phi812 z rodiny *Myoviridae* umožnila dr. Plevkovi a jeho skupině popsat dvojstupňový mechanismus, kterým je regulováno uvolnění genomu z hlavičky fága. Struktura fága phi812 byla publikována v časopise PNAS. V dalším výzkumu publikovaném v časopise Science Advances se dr. Plevka a jeho tým zaměřili na charakterizaci bakteriofága P68 z rodiny

Podoviridae. Ukázali, jak hlavičková vlákna tohoto fága umožňují umístění částice na povrch bakterie v orientaci vhodné pro infekci. To z fága P68 činí vhodný nástroj pro fágovou terapii.

Dr. Plevka je nositel následujících ocenění:

2002: Cena prof. RNDr. Jaroslava Heyrovského pro nejlepší absolventy přírodovědných programů na Karlově Univerzitě

2014: Cena rektora Masarykovy Univerzity za mimořádný výsledek v mezinárodní grantové soutěži

2016: Cena Neuron pro mladé vědce v oboru biologie

2019: Stříbrná medaile Masarykovy Univerzity

2020: Cena Wernera von Siemens v kategorii Nejvýznamnější výsledek základního výzkumu

Dr. Plevka přednesl dvanáct zvaných přednášek jako například Keynote lecture: "Structure and mechanism of genome delivery of tailed phages infecting *S. aureus*" na Gordon Research Conference – Staphylococcal Diseases, Castelldefels, Spain, 2019. Dr. Plevka publikoval 46 vědeckých článků a jedno review, které byly 881krát citovány (h-index=17; Web of Science).

Závěr: Vědecká kvalifikace uchazeče **odpovídá** požadavkům standardně kladeným na uchazeče v rámci habilitačních řízení v oboru Biomolekulární chemie

Hodnocení pedagogické způsobilosti uchazeče

Na Uppsala University a Purdue University působil dr. Plevka jako mentor pre-graduálních studentů a podílel se na výuce praktických kurzů. Jako nezávislý pedagog začal vyučovat po nástupu na Masarykovu Univerzitu v roce 2013. Dr. Plevka připravil a přednáší tři kurzy, které doplňují výuku v magisterských a PhD programech na Masarykově Univerzitě: Structural Virology, Structural Biology Methods, a Scientific Writing Skills. Mimo vlastních kurzů se podílí také na výuce technik proteinové krystalografie a cryo-EM v přednáškových cyklech: Methods in Biophysical Chemistry, Structure of biomacromolecules a Experimental methods of biophysics.

Jako člen vědecké rady definuje dr. Plevka výukové, výzkumné a popularizační aktivity CEITEC-MU.

Dr. Plevka je aktivním školitelem studentů. Dohlížel na vypracování 8 bakalářských prací z nichž 7 bylo již úspěšně obhájeno. Dále byl školitelem 5 magisterských prací, ze kterých byly dosud 4 obhájeny a je školitelem 9 PhD studentů, z nichž 1 již úspěšně obhájil. Tři PhD studenti z jeho skupiny byli oceněni cenou "Brno Talent". PhD student dr. Plevky, Karel Škubník získal v roce 2018 ocenění: "Cena ministra školství, mládeže a tělovýchovy pro vynikající studenty" a "Česká hlava". Dr. Plevka byl také školitelem 10 post-doktorských pracovníků.

Výzkum dr. Plevky je podkladem více než 28 článků v českých médiích, které popularizují výzkum prováděný na Masarykově Univerzitě.

Závěr: Pedagogická způsobilost uchazeče **odpovídá** požadavkům standardně kladeným na uchazeče v rámci habilitačních řízení v oboru Biomolekulární chemie.

Hodnocení habilitační práce uchazeče

Habilitační práce byla předložena jako komentovaný soubor jedenácti prací publikovaných ve vysoce kvalitních mezinárodních časopisech. Její úroveň byla posouzena třemi nezávislými recenzenty z významných tuzemských a zahraničních institucí, jmenovitě prof. Dietrem Blaasem z Medicínské univerzity ve Vídni (Rakousko), prof. Felixem Reyem z Pasteur Institut v Paříži (Francie) a dr. Pavlínou Maloy-Řezáčovou z ÚOCHB AV ČR v Praze. Podrobné hodnocení habilitační práce je obsahem samostatných oponentských posudků. Všichni oponenti hodnotili habilitační práci vysoce kladně a doporučili ji k obhajobě. Komise se z jejich závěry ztotožňuje.

Závěr: Úroveň habilitační práce uchazeče **odpovídá** požadavkům standardně kladeným na habilitační práce v oboru Biomolekulární chemie.

Výsledek tajného hlasování komise

Počet členů komise		5
Počet odevzdaných hlasů		5
z toho	kladných	5
	záporných	0
	neplatných	0

Návrh komise

Na základě výsledku tajného hlasování následujícího po zhodnocení vědecké kvalifikace, pedagogické způsobilosti a úrovně habilitační práce uchazeče předkládá komise Vědecké radě přírodovědecké fakulty Masarykovy univerzity návrh

jmenovat uchazeče docentem v oboru Biomolekulární chemie.

na zastavení řízení.

Brno, dne 5. března 2020

prof. RNDr. Libor Grubhoffer, CSc.

prof. RNDr. Julius Lukeš, CSc.

prof. RNDr. Tomáš Obšil, Ph.D.

prof. RNDr. Vladimír Sklenář, DrSc.

prof. Mgr. Marek Šebela, Dr.