

Posudek habilitační práce Mgr. Marcely Slovákové, Ph.D.

Habilitační práce Mgr. Marcely Slovákové, Ph.D. „**Vývoj, studium a využití imobilizovaných enzymů a bioafinitních nosičů**“ (58 stran bez příloh, 259 literárních citací a 8 příloh publikovaných prací) je věnována využití imobilizovaných enzymů v řadě oblastí, které jsou v centru současného biochemického a biomedicínského výzkumu. Práce přitom představuje průřez jen části jejího odborného působení v dané oblasti na katedře biologických a biochemických věd, fakulty chemicko-technologické, Univerzity Pardubice, včetně řady krátkodobých a jednoho dlouhodobého zahraničního pobytu, především v laboratoři profesora J.L. Vioviho, Institut Curie, Macromolecules and Microsystems in Biology and Medicine, Paříž, Francie, který je přední světový odborník na uvedenou oblast. Z přístupu autorky ke studované problematice je přitom zřejmé, že se v tomto oboru dostatečně orientuje, a při řešení konkrétního bioanalytického či biomedicínského problému je schopna uplatnit své nemalé znalosti.

Pokud jde o vlastní habilitační práci, ta je rozdělena do čtyř částí. V jejím úvodu autorka stručně představuje problematiku aplikace enzymů v oblasti svého odborného zaměření. Zde bych si dovolil několik připomínek:

- i) V roce 2018 vyčlenila Mezinárodní unie pro biochemii a molekulární biologii (IUBMB) translokasy jako samostatnou 7. třídu enzymů.
- ii) Co se týká názvosloví enzymů, oba způsoby jejich uvádění s koncovkami „asa“ a „áza“ jsou z mluvnického hlediska správné, profesori Koštíř a Kotyk ve svém článku věnovanému českému názvosloví enzymů však nedoporučují jejich simultánní používání ve stejném textu.
- iii) Mezi hlavní separační metody kombinované s IMERY bych doporučil zařadit i kapilární elektroforézu, sama autorka se v následném textu na ni mnohdy odkazuje, mnohem častěji než na jejich kombinace s HPLC.

Další tři části, autorkou označené jako bloky, pak představují komentáře věnované řešení konkrétních odborných problémů. Jedná se o blok **Magnetické enzymové nosiče k cílené modifikaci proteinů** odkazující na 3 publikace, blok **Magnetické enzymové a bioafinitní nosiče v mikrofluidním** uspořádání odkazující na 3 publikace a blok **Nanovláknenné nosiče enzymů v biomedicíně** odkazující na 2 publikace. Ty jsou pak v závěrečné části doplněny příslušnými publikacemi, které

přítom v mnoha případech vycházejí ze zahraničních pobytů autorky či z následné spolupráce s příslušným zahraničním pracovištěm především z Paříže. Zde bych si dovolil opět několik připomínek:

- i) Str. 8 V části věnované enzymové kinetice by bylo přesnější uvádět „počáteční rychlost enzymové reakce V “ (možná raději malé v), v následující větě asi autorce vypadlo V „max“, ona zmiňovaná počáteční rychlost není kinetickou konstantou.
- ii) Str.10 Není mi zcela jasná věta „Adsorpce enzymu na hydrofobní nosič byla zprostředkovaná elektrostatickými interakce, a výsledkem byla přístupná aktivní místa enzymu pro substrát a vysoká enzymová aktivita, a také zvýšená teplotní stabilita.“. Týká se toto opravdu vazby oné metalloproteasy na hydroxyapatitové částice – viz příslušná citace, které asi nebudou zástupci hydrofobních nosičů?
- iii) Str.19 Ve větě „U afinitní vazby His-značenými ERK2 a GSK3 β na nikelnaté a kobaltnaté mikročástice....“ by bylo vhodnější uvést „...na částice s imobilizovanými nikelnatými a kobaltnatými ionty...“, aby nevznikla mylná představa, že tyto kovy jsou centrem použitých superparamagnetických částic namísto železa (Fe 3 O 4).

Oceňuji rovněž rozsah citovaných prací – 259 převážně recentních, a zejména v elektronické podobě uvádění indikátorů DOI s přímým hypertextovým odkazem na dané články. Pro někoho může být toto množství velké, nelze však opomenout, že tato oblast v současné době prochází bouřlivým rozvojem.

Jak již bylo zmíněno, studovaná oblast představuje významný cíl současného biochemického a biomedicínského výzkumu, ať už se jedná o oblast proteomiky s vývojem tryptického štěpení v mikrofluidním formátu, oblast studia fosforylace jako snad nejvýznamnější postranslační modifikace se simultánním využitím dvou proteinkinas, orientované imobilizace enzymů prostřednictvím oxidace koncové galaktosové molekuly sacharidového řetězce Ig G, oblast studia proteinových biomarkerů alergických reakcí a prionových onemocnění, obojí v mikrofluidním formátu, a v neposlední řadě imobilizace enzymů, modelového trypsinu a následně kolagenasy, na nanovláknové nosiče a jejich využití pro biomedicínské aplikace, konkrétně na hojení ran. V mnoha případech přítom autorka aplikuje unikátní přístupy a využívá progresivní mikrofluidní technologie.

Ostatně naše výzkumná skupina s úspěchem využila jí dosažené výsledky v rámci práce Slovákova, M., Minc, N., Bilkova, Z., Smadja, C., Faigle, W., Fütterer, C., Taverna, M., & Viovy, J.-L. (2005). Use of self assembled magnetic beads for on-chip protein digestion. *Lab on a Chip*, 5(9), 935. <https://doi.org/10.1039/b504861c>, konkrétně orientaci magnetů pro vytváření IMERu v kombinaci s kapilární elektroforézou pro studium metabolismu léčiv cytochromem P450 a studia inhibitorů β -sekretasy, jako potenciálního cíle terapie Alzheimerovy choroby. S belgickými partnery z KU Leuven pak obecněji při konstrukci IMER v kazetách různých přístrojů pro kapilární elektroforézu a při studiu aldehydoxidasu jako důležitého enzymu podílejícího se rovněž na metabolismu léčiv. Odtud také vychází má připomínka týkající se kombinace IMER s kapilární elektroforézou. Její závěry se nám ve všech studiích jednoznačně potvrdily. Jedná se přitom o práci autorky, která dosáhla nejvíce citačních ohlasů – dle WOS 107 citací k 3.8.2023.

Jak je patrné, Mgr. Marcela Slovákova, Ph.D. má dlouholeté praktické zkušenosti, které habilitační práce shrnuje a věrohodně dokumentuje. Autorka v předložené práci dokázala, že je schopna nejenom sledovat moderní trendy výzkumu, navázat na ně ve vlastní experimentální práci, ale i to že dokáže z výsledků vyvodit i potřebné závěry a jasně a zřetelně je prezentovat. O tom svědčí i odpovídající celkový počet publikací v renomovaných zahraničních časopisech, nejenom odborných ale i přehledových, a také kapitol v monografiích.

V rámci rozpravy bych se zaměřil na oblast uplatnění imobilizace enzymů na nanovláknové nosiče a jejich aplikace na hojení ran, která mi z hlediska praktické aplikace odborně není úplně blízká, a dovolil bych si položit několik otázek, a to: Je mi jasné, že jste se snažili eliminovat množství pokusů na laboratorních zvířatech, což není vždy snadné, nemohly se blízké hojené rány s krytím s kolagenasou a bez ní, jako blank, na jediném zvířeti vzájemně ovlivňovat? Vycházela časová prodleva mezi jednotlivými výměnami krytí z medicínské praxe, případně z měření zbytkové kolagenasové aktivity v krytí? Budete v této oblasti pokračovat, a kterým směrem se zaměří Váš výzkum, budete např. testovat jiné enzymy či jejich kombinace jako v případě prezentovaného studia fosforylace? A konečně otázka která se přímo nabízí, byly dosažené výsledky s imobilizovanou kolagenasou patentovány?

V závěru si ještě dovoluji splnit nezanedbatelný požadavek na posudek, ke kterému jsem se ještě v předchozím textu nevyjádřil. Předložená habilitační práce představuje komentář k 8 pracím již publikovaným převážně v časopisech s vysokým

IF a nízkým/vysokým Q (Q1-2) v daných oblastech, a prošly tedy přísným edičním a recenzním procesem, což potvrzuje jejich originalitu a vylučuje plagiátorství.

O odborné kvalifikaci autorky jako docenta pro obor biochemie není pochyb, a proto doporučuji habilitační práci k dalšímu řízení a navrhuji, aby Mgr. Marcela Slovákové, Ph.D. byla přiznána pedagogická hodnost docent v oboru biochemie.

V Brně 3.8.2023

Prof. RNDr. Zdeněk Glatz, CSc
Ústav biochemie př.f. MU Brno