

Univerzita Karlova	6451
Přijato: 04.12.2018 v 09:03:27	Odbor
Č.j.: UKFaF/171648/2018	Zprac.
Č.dop.: RR808481937CZ	
Listů: 2 Příloh: 0	
Druh: písemné	



Posudek na habilitační práci Dr. Lucie Zemanové s názvem

Význam enzymů z nadrodin AKR a SDR u člověka

Habilitační práce je obhajována Farmaceutické fakultě Univerzity Karlovy v Hradci Králové v oboru biochemie (podle informace z webu Univerzity Karlovy). Po formální stránce má spis charakter kombinující literární rešerši a komentáře shrnující dosažené výsledky ve třech oblastech prováděného výzkumu. K tomu je doplněno celkové shrnutí významu výsledků, seznam zkratk a citované literatury. Následují přílohy plných textů vědeckých prací publikovaných autorkou a jejími spolupracovníky v mezinárodních vědeckých periodikách. Autorka důsledně ke každé z těchto publikací uvádí na str. 40-42 svůj autorský podíl, který je ve všech případech zásadní či podstatný.

Text je psán velmi čtivě, výbornou češtinou. Autorka se vyvarovala chyb stylistických i gramatických (pouze jediná je hned na str. 4), rovněž je minimum překlepů, nebo např. zkratk chybějících v seznamu a tudíž bez vysvětlení. Stejně tak musím pochválit i nakládání s odbornou zdrojovou literaturou, která je řádně citována a citace seřazeny v seznamu, ve kterém je nedostatkem jen nesprávné abecední zařazení českého písmene Ch, nenašel jsem také místo citování práce Komoto et al., 2004, ale to může být moje přehlédnutí.

Práce svým zaměřením představuje příspěvek k enzymologii jako dílčí disciplíně biochemie. V teoretickém úvodu se proto obecně píše o enzymové katalýze, klasifikaci, názvosloví a databázích enzymů (pozor, od srpna 2018 je již 7 enzymových tříd!). Enzymy jsou představeny jako cíle farmakologických studií. Ve své výzkumné činnosti se Dr. Zemanová věnuje aldo-keto reduktasám (AKR) a dehydrogenasám/reduktasám s krátkým řetězcem (SDR). V detailu jsou proto představeny nadrodiny příslušných enzymů, což zahrnuje molekulové vlastnosti, buněčnou lokalizaci, informace o prostorové struktuře a mechanismu katalyzované reakce, přehled běžných substrátů. Přiblížen je význam těchto enzymů, tedy produkce ligandů buněčných receptorů, tvorba aktivních forem steroidů, prostaglandinů, retinoidů, nebo metabolizování léčiv díky redukcí aldehydových či oxo- funkčních skupin. Mají proto vztah k závažným onemocněním (např. nádorovým) vyplývajícím z defektních syntéz důležitých steroidů, či jde třeba o souvislost s vrozeným onemocněním oka, a jsou proto bezesporu zajímavé pro farmakologii. Mám jediný dotaz k této části:

Zmiňujete, že do nadrodiny SDR patří i mechanisticky zcela odlišné enzymy, např. isomerasy. Pokud je vždy hlavní katalytickou aminokyselinou tyrosin, jak se tato aminokyselina či celá konzervovaná architektura aktivního místa podílí např. na isomerační reakci? Je o tom něco známo z literatury?

Uvedeny jsou tři cíle výzkumné práce autorky: 1) role zmíněných enzymů v biotransformaci xenobiotik; 2) studium modulace aktivity těch AKR, které mají roli v rozvoji nádorových onemocnění; 3) enzymologická charakterizace vybraných zástupců nadrodiny SDR.

První cíl zahrnoval metabolizaci anthracyklinů (např. protinádorových léčiv jako je daunorubicin), nesteroidního antiflogistika nabumetonu, karcinogenu z tabákového kouře aj. Využívalo se subcelulárních jaterních frakcí (typicky mikrosomální frakce). Autorka je zdravě kritická k výsledkům, zmiňuje např. nutnost ověření svých dat na tkáňových řezech či zvířecích modelech. Ve druhém směru

byly studovány modulace aktivity AKR s rolí v nádorovém onemocnění. Pracovalo se s rekombinantními enzymy i buněčnými kulturami. Byly např. charakterizovány nové inhibitory enzymu AKR1C3, který se podílí na syntéze aktivních androgenů a prostaglandinů. Je tak potenciálním cílem pro léčbu rakoviny prostaty, hledá se silný specifický inhibitor. Ze studovaných přírodních látek byl enzym inhibován některými flavony a alkaloidy. Isochinolinový alkaloid stylopin byl testován s kulturami nádorových buněk s expresí AKR1C3, prokázána byla významná inhibice při relativně akceptovatelné cytotoxicitě. Konečně proběhla charakterizace vybraných SDR enzymů, membránových proteinů endoplazmatického retikula. Snahou bylo izolovat z jaterních mikrosomů (mj. s využitím afinitní chromatografie) a popsat dosud neprostudované enzymy stejně jako hledat substráty připravených rekombinantních enzymů. V této kapitole mě nejvíce zaujalo molekulové modelování enzymové struktury a dokování vybraných látek do vazebného místa (např. dihydrotestosteronu) na základě virtuálního prozkoumání mnoha sloučenin z databáze metabolitů. Následně proběhly i experimentální studie.

K této části mám následující dotaz:

Substráty enzymu DHRS7 nalezené molekulovým dokováním a ověřené např. fluorescenčními a chromatografickými experimenty mají poměrně rozdílnou chemickou strukturu. Při známé existenci široké substrátové specifčnosti by mě zajímalo, do jaké míry může být indukováno přizpůsobení aktivního místa, zda je o tom něco známo z literatury či vašich výsledků. Jsou tyto enzymy spíše rigidní a aktivní místo je dostatečně velké pro vazbu substrátů rozdílné struktury, nebo se dají předpokládat významné strukturální změny? Prováděli jste i nějakou simulaci molekulové dynamiky?

V závěru jsou zhodnoceny role AKR a SDR v metabolismu důležitých endogenních metabolitů i xenobiotik. Autorka stručně navrhuje i cesty možného budoucího výzkumu např. ověření modelových in vitro reakcí na tkáňových vzorcích, detailní studium vztahu mezi strukturou a funkcí, hledání interakčních partnerů

Habilitační práce má vysokou úroveň jak po stránce obsahové, tak i po stránce svého zpracování. Je založena na originálních experimentálních datech získaných systematickou vědeckou prací. Kvalita tohoto výzkumu se odráží v přílohových publikacích v mezinárodních časopisech, kde výsledky autorky a jejich spolupracovníků prošly standardním recenzním řízením. Celek svědčí o autorčině vědomostním a tvůrčím potenciálu, vědecké samostatnosti, schopnosti získávat reprodukovatelná data a správně je vyhodnocovat. Soudím, že Dr. Zemanová je v oboru (bio) chemie zcela kompetentní a vyzrálou osobností a zaslouženě aspiruje na udělení vědeckopedagogického titulu docent(ka) podle §71 a 72 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

Habilitační práci Dr. Zemanové proto jednoznačně doporučuji k obhajobě.

V Olomouci dne 19. 11. 2018

Prof. Marek ŠEBELA

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
CENTRUM REGIONU HANÁ
PRO BIOTECHNOLOGICKÝ A ZEMĚDĚLSKÝ VÝZKUM
ODD. BIOCHEMIE PROTEINŮ A PROTEOMIKY
Šlechtitelů 27, 783 71 OLOMOUČ - HOLICE