



## OPONENTSKÝ POSUDOK

habilitačnej práce **RNDr. Rastislava Varhača, PhD.**,

s názvom:

**„Konformačná variabilita cytochrómu *c* v extrémnych podmienkach“**

Na základe vymenovania do funkcie oponentky habilitačnej práce RNDr. Rastislava Varhača, PhD., zamestnanca Univerzity Pavla Jozefa Šafárika v Košiciach Prírodovedeckej fakulty Ústavu chemických vied, v odbore habilitačného a inauguračného konania biochémie s názvom „Konformačná variabilita cytochrómu *c* v extrémnych podmienkach“, prípisom pána doc. RNDr. Romana Sotáka, PhD., predsedu Vedeckej rady a dekana Prírodovedeckej fakulty UPJŠ v Košiciach zo dňa 8. októbra 2021, som vypracovala predkladaný oponentský posudok v zmysle Vyhlášky MŠVVaŠ SR č. 246/2019 Z. z. o postupe získavania vedecko-pedagogických titulov a umelecko-pedagogických titulov docent a profesor.

RNDr. Rastislav Varhač, PhD., vypracoval habilitačnú prácu na tému „Konformačná variabilita cytochrómu *c* v extrémnych podmienkach“, ako súčasť habilitačného konania v odbore biochémie. Prácu predložil ako súbor publikovaných vedeckých prác doplnený komentárom v zmysle §1 ods. 3, písm. c) Vyhlášky MŠVVaŠ SR č. 246/2019 Z. z.

### Aktuálnosť zvolenej témy habilitačnej práce

Tému habilitačnej práce hodnotím ako vysoko aktuálnu, nakoľko nové poznatky o štruktúre cytochrómu *c* otvárajú nové dimenzie pochopenia mechanizmov pri plnení si jeho funkcií v bunkových procesoch rozhodujúcich o živote – v dýchanom reťazci a o programovanej smrti – v apoptóze. Autor práce študoval teplotne indukovanú nenatívnu formu ferrocytochrómu *c*, teplotne indukované konformačné prechody ferrocytochrómu *c*, kyselinou indukovanú konformačnú zmenu ferrocytochrómu *c* a stanovenie hodnoty  $pK$  kyslého prechodu, závislosť teploty prechodu ferricytochrómu *c* od pH, interakciu ferrocytochrómu *c* s peroxidovaným kardiopolipínom, viazanie kyanidového aniónu k hému ferricytochrómu *c* v prostredí s nízkou iónovou silou, s vysokou iónovou silou, s denaturačným činidlom a v prítomnosti aniónov Hofmeisterovej série. O aktuálnosti témy habilitačnej práce svedčí aj vysoká citovanosť zahrnutých publikácií v renomovaných časopisoch, ako sú Chemical Society Reviews s impakt faktorom 33,38 a Chemical Reviews s impakt faktorom 41,29, patriacich do kategórie Q1.

### Zvolené metódy spracovania habilitačnej práce

Na dosiahnutie vytýčených cieľov autor použil širokú škálu vhodne zvolených metód: analýzu absorpčných spektier, diferenčnú skenujúcu kalorimetriu, viskozimetriu, cirkulárny dichroizmus, fluorescenčnú spektroskopiu, analytickú ultracentrifugáciu, elektrónovú

**KOSTECKÁ Zuzana, doc. MVDr., PhD. (vedúca)**

☎ +421 915 984 621      ✉ zuzana.kostecka@uvlf.sk

Ignáčzová Viera, Ing. (sekretariát)

☎ +421 915 984 612      ✉ viera.ignaczova@uvlf.sk

<http://www.uvlf.sk>

IBAN: SK42 8180 0000 0070 0007 2225

SWIFT: SPSRSKBA

IČO: 00397474

IČ DPH: SK2020486699

paramagnetickú rezonanciu a iné.

#### Dosiahnuté výsledky habilitačnej práce

Autor habilitačnej práce dosiahol mnohé originálne výsledky v štúdiu konformačnej variability cytochrómu *c*, z ktorých si dovoľím uviesť nasledujúce:

1. využitím lineárnej extrapolácie na nulovú koncentráciu denaturantu zistil hodnotu zdanlivej  $pK$  ( $0,86 \pm 0,07$  pri  $25^{\circ}C$ ), ktorá doposiaľ pre ferrocytochróm *c* nebola zaznamenaná žiadnou technikou;
2. objasnil účinok peroxidovaného kardiolipínu na ferrocytochróm *c*, ktorý spôsobil oxidáciu ferrocytochrómu *c*, deštrukciu hémovej skupiny a následnú agregáciu ferrocytochrómu *c*;
3. popísal porušenie sekundárnej a terciárnej štruktúry ferricytochrómu *c* v kyslej oblasti  $pH$  na rozdiel od prostredia s vysokou iónovou silou sledovaním rýchlosti viazania kyanidového ligandu k hémovému železu;
4. zaznamenal vyššiu celkovú stabilitu ferricytochrómu *c* v prítomnosti kozmotropných aniónov v porovnaní s ich absenciou sledovaním rýchlosti viazania kyanidového ligandu k hémovému železu v prostredí iónov Hofmeisterovej série.

#### Prínos habilitačnej práce pre ďalší rozvoj vedného odboru

Prínos pre ďalší rozvoj vedy a prax spočíva v získaní nových poznatkov, ktoré sú originálne a cenné pre rozvoj základného výskumu vo vednom odbore biochémia. Ide hlavne o poznanie konformačnej variability a stability cytochrómu *c* v oxidovanej a redukovanej forme, pričom termostabilita ferrocytochrómu *c* cicavčieho pôvodu je porovnateľná s termostabilitou ferrocytochrómu *c* termofilných baktérií. Významným prvenstvom a metodicky originálnym prístupom bolo vyčíslenie hodnoty  $pK$  kyslého prechodu ferrocytochrómu *c*. Výsledky monitorovania rýchlosti viazania nízkomolekulového kyanidového ligandu k hému ferricytochrómu *c* potvrdzujú vhodnosť tohto prístupu pri detegovaní štruktúrnych zmien v procese kyselinou-indukovaného rozbaľovania ferricytochrómu *c*. Prínos habilitačnej práce spočíva v poznaní konformačných zmien cytochrómu *c* vplyvom podmienok ako sú zmena koncentrácie iónov,  $pH$  prostredia, teploty a prítomnosť povrchov fosfolipidovej membrány, ktoré sú využiteľné pri hlbšom spoznávaní biologickej funkcie cytochrómu *c* v bunkách živého organizmu.

#### Formálna stránka habilitačnej práce

Habilitačná práca je spracovaná na 71 stranách textu, vhodne doplneného 4 tabuľkami, 44 obrázkami. Je súborom ôsmich publikovaných prác autora v anglickom jazyku v rokoch 2004 – 2015, v renomovaných vedeckých časopisoch s impakt faktorom od 2,27 – 4,08. Tieto boli podrobené náročným recenzným konaniam redakciami príslušných vedeckých časopisov, z čoho vyplýva, že moja úloha oponentky je uľahčená. Sústredila som sa na posúdenie habilitačného spisu po formálnej a syntetickej stránke jeho obsahu.

Okrem úvodu práca je členená do piatich kapitol – súčasný stav problematiky (1) s rozdelením na štyri podkapitoly (Štruktúra cytochrómu *c*, Funkcie a interakcie cytochrómu *c in vivo*, Konformačné zmeny cytochrómu *c in vitro*, a Konformačná dynamika a flexibilita cytochrómu *c*); dosiahnuté výsledky (2) predstavujúca štyri podkapitoly (Konformačné

prechody ferrocytochrómu *c*, Konformačné prechody ferricytochrómu *c*, Interakcia ferrocytochrómu *c* s peroxidovaným kardiolipínom, Viazanie nízkomolekulového ligandu ako nástroj na sledovanie štruktúrnych zmien ferricytochrómu *c*); záver (3); bibliografia (4); prílohy (5). Podkladom pre vypracovanie komentára k súboru ôsmich publikovaných prác bolo 161 literárnych zdrojov.

Text práce je písaný po odbornej stránke logicky, nadväzujúco, s výborným citom pre precíznu syntézu výsledkov a vyslovenie všeobecných záverov. Práca je napísaná jazykovo, pravopisne a štylisticky na vysokej úrovni bez akýchkoľvek chýb – jediná, ktorá neunikla mojej pozornosti, je písanie desatinných bodiek namiesto desatinných čiarok, čo sa stáva pod vplyvom štúdia anglickej literatúry. Po formálnej stránke spis je spracovaný precízne, s obojstrannou tlačou, pôsobí uceleným a úhl'adným dojmom.

#### Pripomienky, otázky a poznámky k habilitačnej práci

K habilitačnej práci nemám zásadné pripomienky, ani poznámky, mám jednu otázku: Ako vidíte svoju budúcu vedecko-výskumnú činnosť, budete sa venovať štúdiu cytochrómu *c* naďalej alebo využijete svoje metodické prístupy a skúsenosti pri štúdiu iných proteínov?

#### Záver

Posudzovanou habilitačnou prácou RNDr. Rastislav Varhač, PhD., dokumentuje vysokú úroveň svojej vedecko-výskumnej erudície, schopnosť dobrej voľby aktuálnych problémov pre ich riešenie a záruku rozvoja daného vedného odboru. Predložená habilitačná práca spĺňa podmienky kladené na tento druh vedeckých prác, a preto odporúčam príslušnej habilitačnej komisii ju prijať ako podkladový materiál pre habilitačné konanie a po jej úspešnom obhájení a splnení požadovaných kritérií udeliť RNDr. Rastislavovi Varhačovi, PhD., v zmysle Vyhlášky MŠVVaŠ SR č. 246/2019 Z. z. o postupe získavania vedecko-pedagogických titulov a umelecko-pedagogických titulov docent a profesor vedecko-pedagogický titul **docent** v odbore **biochémia**.

V Košiciach 17. decembra 2021

doc. MVDr. Zuzana Kostecká, PhD.