

## OPONENTSKÝ POSUDOK

na habilitačnú prácu RNDr. Gabriela Žoldáka, PhD.

„Štúdium biofyzikálnych vlastností proteínov pomocou laserovej optickej pinzety“

Posudok podáva: Prof. MUDr. Ladislav Mirossay, DrSc.

Ústav farmakológie UPJŠ LF

Trieda SNP 1

040 11 Košice

Význam komplexných fyzikálno-chemických vlastností proteínov v systéme kontroly funkcií živých organizmov, vrátane človeka, je mimoriadny. Nikdy som sa nezamýšľal nad tým, či je život bez enzýmov možný, pretože som automaticky akceptoval presvedčenie, že nie. Napriek tomu som sa však hlbšie nezaoberal otázkou presného fungovania enzýmov počas nimi sprostredkovaných reakcií na nano úrovni. Predkladaná práca ma presvedčila o dôležitosti štúdia a pochopenia týchto procesov, nielen ako chemických vzorcov a reakcií, ale reálnych pohybov makromolekúl proteínov pri tejto činnosti. Je nepopierateľné, že alterácia funkcie enzýmov, spôsobená rôznymi dôvodmi, prináša so sebou u ľudí vážne poruchy fyzických, či mentálnych aktivít. Tieto sa prejavujú ako závažné ochorenia, ktoré sú často dôvodom predčasného letálneho konca. Z týchto dôvodov sa mi práca javí ako nanajvýš aktuálna.

Podkladom habilitačnej práce je rozsiahly experimentálny materiál, čo dokazuje vedecké schopnosti habilitanta. Teoretické pozadie spolu s úvodným pohľadom do histórie objavu a zavedenia kľúčových metodík a technológií potrebných pre tak sofistikovaný výskum, ako aj diskutované dosiahnuté výsledky a závery svedčia o jeho pedagogických schopnostiach vysvetliť zvolenú tému a vyvodíť z nej logické závery.

Predložená habilitačná práca má 67 strán. Ďalšou oddelenou časťou sú 4 prílohy, *in extenso* publikované články autora v odborných periodikách, v ktorých sú prezentované konkrétne výsledky, ako aj metodika experimentálnych postupov. Prvá časť práce je jasne a dostatočne rozpísaná, pričom sa každá časť opiera o už spomínané publikované práce. Text je primerane ilustrovaný grafmi, obrázkami a tabuľkami, ktoré vhodne dopĺňajú text. Nakoľko boli uverejnené v renomovaných časopisoch a prešli recenzným konaním, niet pochyb o ich kvalite. Celý spis je koncipovaný do kapitol, vrátane časti s citovanou literatúrou.

Ciele práce sú dobre definované s jasne nasmerovaným záujmom o možné vysvetlenie mechanizmov práce vybraných enzýmov, pracujúcich ako chemicky aktívne molekulové stroje. Popísané sú mechanizmy, ako aj procesy a namerané parametre súvisiace s aktivitami spomínaných enzýmov (zbaľovanie a rozbaľovanie proteínov, mechanické otváranie a zatváranie aktívneho miesta enzýmu, zmeny pri viazaní substrátov, ich vzájomné ovplyvňovanie sa a pod.). Súbor 4 experimentálnych prác je dobre vybraný a zoradený. Dosiachnutie vytýčených cieľov je samozrejme jasne dokumentované v záveroch každej podkapitoly, ale aj v záveroch celej práce pod titulom „PLÁNOVANÝ ĎALŠÍ VÝSKUM“. V závere autor stručne zhrnul výsledky celého svojho experimentálneho snaženia s prepojením na dôležitosť takéhoto výskumu pre aplikačné potreby v klinickej praxi.

Citovaná literatúra v celkovom počte 159 je v závere habilitačnej práce číselne zoradená na 6 stranách podľa poradia výskytu citovaných prác v texte.

K habilitačnej práci mám nasledovné pripomienky:

- Po formálnej stránke je práca napísaná veľmi precízne.
- Množstvo preklepov je minimálne, napr.:
  - ❖ Dr. **Arturh** Ashkin na s. 2
  - ❖ 80-**tich** rokov na s. 8
  - ❖ v **dôsledok** heterogenity na s. 14
  - ❖ (a) priame **určenie určenie** profilu na s. 17

Z informácií v habilitačnej práci a v svetovej literatúre vyplývajú aj moje otázky, ktoré sa týkajú dvoch nasledujúcich viet:

➤ Na s. 27 sa nachádza veta:

❖ **Avšak aj v neprítomnosti substrátov sa Adk dynamicky otvára a uzatvára, ako ukázali experimenty a molekulové simulácie [86-89].**

➤ Naproti tomu je na s. 29 napísané, že:

❖ **Táto interpretácia je podporená zistením, že v neprítomnosti inhibítora je viditeľný len otvorený stav, zatiaľ čo zatvorený stav existuje iba v prítomnosti inhibítora [92].**

1. Vedeli by ste vysvetliť, čo to znamená, že v neprítomnosti substrátov sa enzým Adk dynamicky otvára a uzatvára a v neprítomnosti inhibítora je viditeľný len otvorený stav?
2. Otvorený stav enzýmu je v neprítomnosti inhibítora fixný, nezávisle od prítomnosti alebo neprítomnosti substrátu? To sa mi ale javí v rozpore s predchádzajúcim tvrdením, keď v neprítomnosti substrátov (a predpokladám aj inhibítora) dochádza k spontánnej dynamickej zmene.
3. Ako sa enzým chová, keď je prítomný inhibítor aj substrát?

### **Záver:**

Rozborom a posúdením predloženej habilitačnej práce môžem prehlásiť, že RNDr. Gabriel Žoldák, PhD. jednoznačne preukázal, že je nádejnou vedecko-pedagogickou osobnosťou. Predložený habilitačný spis spĺňa všetky podmienky pre prijatie na obhajobu, a preto odporúčam, aby bol po úspešnej habilitačnej prednáške a obhájení téz habilitačného spisu **udelený RNDr. Gabrielovi Žoldákovi, PhD. vedecko-pedagogický titul docenta** v odbore habilitačného a inauguračného konania **B i o f y z i k a**.