

Oponentský posudek habilitační práce „Imunochemická detekce nízkomolekulárních látek.“ Ing. Barbory Holubové, Ph.D. z Ústavu biochemie a mikrobiologie, VŠCHT v Praze.

Habilitační práce k získání hodnosti docenta v oboru Biochemie předložená Ing. Barborou Holubovou, Ph.D. z Ústavu biochemie a mikrobiologie VŠCHT v Praze má rozsah 33 stran vlastního textu, obsahuje 18 obrázků a 2 tabulky a je zakončena literaturou, ve které bylo citováno 82 článků a 9 webových stránek, dále obsahuje 16 příloh týkajících se dané problematiky. Práce je stylově i graficky zdařilá a dobře upravená. Podle seznamu publikací je Ing. Holubová prvním autorem u 3 zahraničních publikací, z toho 2x byl IF roven 5.1, spoluautorem u 8 zahraničních impaktovaných publikací, prvním autorem u 2 a spoluautorem u 4 impaktovaných domácích publikací. Souhrnný IF těchto publikací je roven 39.5, články byly 190x citovány. Je spoluautorkou 2 kapitol ve 2 českých monografiích, 2 národních patentů a 1 užitého vzoru, dále autorkou článku uveřejněného v jiném časopise s recenzním řízením a autorkou nebo spoluautorkou v 18 sbornících zahraničních i domácích posterů a přednášek.

Cílem habilitační práce bylo popsat vývoj rychlých a praktických kvalitativních až kvantitativních jedno- i víceanalytových imunoanalytických metod stanovení nízkomolekulárních látek (haptenu), které by sloužily k detekci některých pesticidů, anabolických steroidů a nových psychoaktivních látek. V úvodu je podán přehled problematiky zahrnující i moderní nekompetitivní formáty a imunochromatografické postupy.

Ing. Holubová se v rámci Laboratoře bioafinitních metod ÚBM, VŠCHT v období 2003 – 2013 podílela na vývoji a aplikaci imunochemických technik (ELISA) sloužících k analýze chlorovaných pesticidů (DDT a jeho metabolity, cyklodienové pesticidy) a karbamátových insekticidů ve spolupráci s Polytechnickou univerzitou ve Valencii, Španělsko, která připravila imunizační i imobilizační konjugáty a protilátky, které byly testovány v Laboratoři bioafinitních metod ve formátu nepřímé kompetitivní ELISA nebo LFIA. Výsledkem práce bylo 8 impaktovaných publikací. Další oblastí činnosti Ing. Holubové byl v letech 2013 – 2018 vývoj imunochemické multianalytové detekce anabolických steroidů v potravinových doplňcích, který probíhal ve spolupráci s Ústavem přírodních látek, VŠCHT, kde byly syntetovány potřebné konjugáty. Výstupem bylo 5 impaktovaných článků. Ing. Holubová se rovněž v období 2017 – 2018 zabývala vývojem ELISA a imunochromatografických postupů detekce syntetických kanabinoidů a tryptaminů (tzv. nových psychoaktivních látek), opět ve spolupráci s Ústavem přírodních látek, který syntetoval potřebné konjugáty. Výstupem byly 3 impaktované články a 2 národní patenty. Imunochromatografický test sloužící k detekci enterotoxinu C bakterie *S. aureus*, na němž se Ing. Holubová podílela, byl v roce 2016 přijat jako užitečný vzor. Navržené imunochemické postupy byly v případě některých pesticidů, anabolik a psychoaktivních látek dovedeny až ke komerčně dostupným analytickým soupravám.

Rozsah imunochemických metodik prováděných pomocí jedno- nebo víceanalytového formátu, jejichž vývoje se Ing. Holubová účastnila, je značný a dotýká se zdraví široké populace, ať již se jedná o pesticidy, anabolika nebo nové psychoaktivní látky. Její práce usnadní eliminaci těchto látek z prostředí a přispěje tak ke zlepšení zdravotního stavu populace. Jak pesticidy, tak i anabolika mohou kromě jiného fungovat jako endokrinní disruptory a jak je dobře známo, život závisí na schopnosti normálního vývoje a reprodukce, což není možné bez zdravého endokrinního systému.

K práci mám tyto dotazy a připomínky:

- 1) Jaký je rozdíl mezi imunogenem - antigenem a imunogenicitou – antigenicitou? (str. 2, 5 ř. zdola)
- 2) Proč vyšší koncentrace haptenu navázaných na nosič vede k nižší afinitě protilátek? (str. 3, 7 ř. zdola)
- 3) Na str. 5, 14 ř. zdola (ELISA, EMIT, enzym?) je vyjádření neúplné, ani v seznamu zkratk není uvedeno, co znamená EMIT.

- 4) Jaký význam má vyjádření „heterologní formát imunochemické metody? (např. str. 20, 3 ř. zdola)
- 5) Byly v Laboratoři bioafinitních metod syntetizovány některé imunizační, imobilizační konjugáty a tracers, realizovala se zde imunizace pokusných zvířat?
- 6) Je možné porovnat správnost (pravdivost a přesnost) a náklady na vývoj a rutinní provozování analýz nízkomolekulárních látek pomocí imunochemických postupů s postupy využívajícími techniku LC-MS nebo GC-MS?

Závěr

Předložená práce se zabývá vysoce aktuálními problémy spojenými s kvalitativním až kvantitativním imunoanalytickým stanovením nízkomolekulárních látek typu pesticidů, anabolik a nových psychoaktivních látek. Aplikované imunochemické postupy nevyžadují zvláštní investičně náročné laboratorní vybavení, jsou jednoduché pro použití a obvyklé v běžných chemických i klinických laboratořích. Senzitivní, specifické a ekonomicky dostupné imunochemické metody zlepšují situaci jak při prevenci řady onemocnění, v prognóze stavu pacientů a účinnosti jejich léčby, tak i při kontrole potravin a vody na přítomnost pesticidů a dalších látek, které z nutričního hlediska negativně ovlivňují jejich kvalitu. Uplatnění mohou mít tyto postupy i v toxikologii a forensních vědách.

Habilitační práce pojednává o aktuálním tématu, splnila vytčené cíle, používá adekvátní metody a přináší nové poznatky i pro další obory včetně klinické biochemie. Habilitační práce prokazuje, že její autor je vyhraněnou osobností s vysokou vědeckou kvalifikací.

Předložené doklady, pedagogická praxe a vědecká způsobilost uchazečky vyhovují požadavkům daným Zákonem 111/1998 Sb. ve znění pozdějších předpisů a rámcovým kritériím pro jmenování docentů na VŠCHT v Praze.

Doporučuji habilitační práci Ing. Barbory Holubové, Ph.D. přijmout v předložené formě a na jejím základě doporučení udělit Ing. Barboře Holubové, Ph.D. titul docent pro obor Biochemie.



V Praze 16.1.2019

Doc. Ing. Radovan Bílek, CSc.
Endokrinologický ústav v Praze