

Martin Hof: Přinášíme nové fluorescenční metody do biofyziky a biologie

Profesor Martin Hof, Dr. rer. nat., DSc., se již více než 15 let věnuje vývoji nových fluorescenčních technik a jejich využití v biologických vědách. Pracuje jako vedoucí Oddělení biofyzikální chemie v Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského Akademie věd ČR, v. v. i. Přednáší a školí postgraduální studenty, např. na přírodovědeckých fakultách Karlovy univerzity v Praze a Palackého univerzity v Olomouci či na Fakultě jaderné a fyzikálně inženýrské Českého vysokého učení technického v Praze. Je spoluautorem 114 článků v časopisech a počet citací jeho prací přesahuje 1200. Jeho renomované postavení v mezinárodní vědecké komunitě dokazují fakta, že byl jmenován „senior editorem“ knižní řady „Springer Series on Fluorescence“ a je hlavním editorem impaktovaného časopisu *Journal of Fluorescence* pro Evropu.

Za posledních deset let se mi podařilo založit novou vědeckou skupinu, zároveň dva nové směry výzkumu v Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského i v České republice. **Prvním směrem je vývoj nových fluorescenčních technik a jejich aplikace v biologických vědách.** Naše výzkumná skupina pronikla v této oblasti do světové špičky. Všeobecnou praxí je spíše aplikovat již existující fluorescenční techniky, nám se však podařilo několik nových technik vyvinout: například fluorescenční korelační spektroskopii (FCS) se z-skenováním, první FCS metodiku poskytující nezkrácené absolutní hodnoty difuzních koeficientů v planárních systémech. Tuto techniku používáme ke stanovení přítomnosti mikrodomén v membránách živých buněk či ke sledování difuze periferních membránových proteinů. Dále jsem se podílel na vývoji metody k rozlišení příspěvků jednotlivých molekul ve fluorescenční korelační spektroskopii na základě rozdílných dob života fluorescence a využil ji ve výzkumu membrán a též k objasnění mechanismu kondenzace molekul DNA.

Co se týče druhého výzkumného směru, náš tým je první českou skupinou, která se zabývá základními biologickými otázkami spojenými s fosfolipidovou dvojvrstvou – relevantním modelem biologických membrán.

Díky pokročilým fluorescenčním metodám, které ve skupině vyvíjíme, se můžeme zabývat fundamentálními biofyzikálními a biologickými problémy a poskytovat nové důležité poznatky v biofyzice membrán, v molekulární biologii membrán i v proteinovém inženýrství.

Týmu převážně mladých vědců se podařilo vytvořit v České republice novou výzkumnou linii, která může úspěšně soutěžit s laboratořemi v Evropě, Severní Americe a Asii. Skutečnost, že do práce na projektech, které získaly podporu Premium Academiae, bude zapojena řada vynikajících mladých vědců, garantuje další dynamický rozvoj těchto výzkumných oblastí.

Prof. Martin Hof, Dr. rer. nat., DSc.

Narozen: 21. 9. 1962 ve Friedbergu (SRN), od roku 1996 trvalý pobyt v ČR

Současný zaměstnavatel: Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského Akademie věd ČR, v. v. i.

Vzdělání:

2009 profesor fyzikální chemie jmenovaný prezidentem ČR
2006 obhajoba DSc. práce ve skupině věd – chemické vědy, Akademie věd ČR
1999 habilitace na Fakultě chemie a farmacie na Universität Würzburg
1990 Ph.D. z fyzikální chemie s vyznamenáním na Universität Würzburg
1987 „Diplom-Chemicker“ s vyznamenáním na Universität Würzburg

Profesionální pozice:

2007 zástupce ředitele ÚFCH JH AV ČR
2007 předseda Rady ÚFCH JH AV ČR
2006 koordinátor Centra základního výzkumu „Fluorescenční mikroskopie v biologickém a lékařském výzkumu“
2006 vedoucí nově založeného Oddělení biofyzikální chemie ÚFCH JH AV ČR
2004–2006 předseda Vědecké rady ÚFCH JH AV ČR
2001 přednášející a školitel Ph.D. studentů na přírodovědeckých fakultách Univerzity Karlovy v Praze a Palackého univerzity v Olomouci, na Fakultě jaderné a fyzikálně inženýrské Českého vysokého učení technického v Praze a na Biologické fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích
2000 vedoucí vědecký pracovník ÚFCH JH AV ČR
1997–1999 vědecký pracovník a přednášející na Julius-Maximilians-Universität Würzburg
1997–1999 vědecký pracovník ÚFCH JH AV ČR
1996 „visiting scientist“ na University of Patras v Řecku
1993–1995 Univerzita Karlova v Praze (fyzikální chemie)
1991–1993 „postdoctoral fellowship“ na University of North Carolina at Chapel Hill a Universität Würzburg
1987–1990 Ph.D. studium na Universität Würzburg

Regionální editor pro Evropu časopisu *Journal of Fluorescence* od roku 2008

Editor „Springer Series on Fluorescence“ od roku 2011

Publikační činnost (publikované nebo akceptované články):

Autor 114 článků, 17 kapitol v knihách, jednoho patentu, editor 2 knih; ~ 1200 citací (> 800 bez autocitací); *h*-index: 20; největší počet citací za rok: 229 (2010); největší součet impaktfaktorů za rok: 47,5 (2010)

Pedagogická aktivita:

V roce 2010 kurzy Fluorescenční spektroskopie a Spektroskopie na čtyřech různých českých univerzitách. Školitel diplomové práce osmi studentů; školitel Ph.D. 17 studentů (9 již obhájilo).

Vědecká ocenění:

1991 disertace oceněna „Unterfraenkische Gedenkjahresstiftung“ jako výjimečná bavorská disertace
1987, 1991, 1993, 1997 čtyři prestižní doktorandská (Fonds der Deutschen Chemischen Industrie), postdoktorandská (Deutsche Forschungsgemeinschaft) a habilitační stipendia (Fonds der Deutschen Chemischen Industrie, Deutsche Forschungsgemeinschaft). Poslední dvě zmíněná stipendia financovala prvních pět let v ČR na Univerzitě Karlově a AV ČR.

Ocenění v poslední době:

2009 Cena Karla Preise
2008 Cena Akademie věd ČR za zvláště úspěšné řešení grantových projektů

Ocenění členů skupiny a minulých Ph.D. studentů: disertace A. Bendy získala prestižní cenu Česká hlava 2007 v kategorii Doctorandus a Cenu ministra školství, mládeže a tělovýchovy pro vynikající studenty a absolventy studia ve studijním programu. Dr. J. Humpolíčková získala Cenu Učené společnosti ČR pro mladé vědecké pracovníky (2008) a Stipendium L'Oréal ČR pro ženy ve vědě (2010). Dr. J. Sýkora získal Cenu J. Hlávky (2009).

Anotace nejvýznamnějších výsledků (podtržení autoři působí v ÚFCH JH AV ČR)

1. Porozumění modelovému systému „supported phospholipid bilayer“ (povrchem podporovaná fosfolipidová dvojvrstva)

Povrchem podporované fosfolipidové dvojvrstvy jsou modelové membrány, které nacházejí uplatnění v biosensorech, „blood-compatible“ povrchích, zdravotnických implantátech a při produkci katalytických rozhraní. V osmi publikacích (2002–2008) jsme zodpověděli základní otázky spojené se vznikem a s vlastnostmi těchto membrán.

A. Benda, M. Beneš, V. Mareček, A. Lhotský, W. Th. Hermens, M. Hof: *How to Determine Diffusion Coefficients in Planar Phospholipid Systems by Confocal Fluorescence Correlation Spectroscopy.* (2003), *Langmuir* 19, 4120.

M. Beneš, D. Billy, A. Benda, H. Speijer, M. Hof, W. T. Hermens: *Surface-dependent Transitions during Self-assembly of Phospholipid Membranes on Mica, Silica and Glass.* (2004), *Langmuir* 20, 10 129.

M. Przybylo, J. Sýkora, J. Humpolíčková, A. Benda, A. Zan, M. Hof: *The lipid diffusion in giant unilamellar vesicles is more than two times faster than in supported phospholipid bilayers under identical conditions* (2006), *Langmuir* 22, 9096.

2. Hydratace a mobilita lipidových membrán a enzymů: metoda „solvent relaxation“

V sérii publikací jsme zdokumentovali náš vývoj metody „solvent relaxation“ (založené na relaxaci rozpouštědla), vhodné pro určování hydratace a mobility v membránách; v použití této techniky jsme vedoucím pracovištěm. V kombinaci s MD simulacemi se jejím prostřednictvím snažíme o porozumění biofyzice membrán na atomární úrovni. V poslední době ukázala tato metoda svůj přínos také při optimalizaci proteinového designu.

P. Jurkiewicz, A. Olžvyńska, M. Langner, M. Hof: *Headgroup Hydration and Mobility of DOTAP/DOPC Bilayers: A Fluorescence Solvent Relaxation Study.* (2006), *Langmuir* 22, 8741.

A. Jesenská, J. Sýkora, A. Olžvyńska, J. Brezovský, Z. Zdráhal, J. Damborský, M. Hof: *Nanosecond Time-Dependent Stokes Shift at the Tunnel Mouth of Haloalkane Dehalogenases.* (2009), *Journal of the American Chemical Society* 131, 494.

L. Beranová, L. Cwiklik, P. Jurkiewicz, M. Hof, P. Jungwirth: *Oxidation Changes Physical Properties of Phospholipid Bilayers: Fluorescence Spectroscopy and Molecular Simulations.* (2010), *Langmuir* 26, 6140.

3. Nové fluorescenční „single molecule“ techniky

„Single molecule fluorescence“ je nové, velice dynamicky se rozvíjející pole výzkumu. Naše skupina v této oblasti přispěla vývojem tří nových technik: z-scan Fluorescence Correlation Spectroscopy, Fluorescence Lifetime Correlation Spectroscopy a Dynamic Saturation Optical Microscopy a ukázala jejich využití při zodpovídání aktuálních otázek biofyziky.

J. Humpolíčková, A. Benda, J. Sýkora, R. Macháň, T. Kral, B. Gasinska, J. Enderlein, M. Hof: *Equilibrium dynamics of spermine-induced plasmid DNA condensation revealed by fluorescence lifetime correlation spectroscopy.* (2008), *Biophysical Journal* 94, L17.

M. Štefl, A. Kulakowska-Zań, M. Hof: *Simultaneous Characterization of Lateral Lipid and Prothrombin Diffusion Coefficients by Z-Scan Fluorescence Correlation Spectroscopy.* (2009), *Biophysical Journal* 97, L01.

J. Humpolíčková, A. Benda, R. Macháň, J. Enderlein, M. Hof: *Dynamic saturation optical microscopy: employing dark-state formation kinetics for resolution enhancement.* (2010), *Physical Chemistry Chemical Physics* 12, 12 457.

Výzkumný plán: *Pokročilé fluorescenční metody v biofyzice a biologii*

Za posledních deset let se mi podařilo založit novou vědeckou skupinu, zároveň dva nové směry výzkumu v Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského i v České republice. Prvním směrem je vývoj nových fluorescenčních technik a jejich aplikace v biologických vědách. Naše skupina pronikla v této oblasti do světové špičky. Všeobecnou praxí je spíše aplikovat již existující fluorescenční techniky, nám se však podařilo několik nových technik vyvinout: fluorescence solvent relaxation technique¹⁻³, z-scan Fluorescence Correlation Spectroscopy (z-scan FCS)^{4,5}, Fluorescence Lifetime Correlation Spectroscopy (FLCS)⁶ a Dynamic Saturation Optical Microscopy (DSOM)⁷. Co se týče druhého výzkumného směru, jsme první česká skupina, která se zabývá fundamentálními biologickými otázkami spojenými s fosfolipidovou dvojrivrstvou – relevantním modelem biologických membrán.

Na těchto základech bych chtěl vytyčit tři budoucí výzkumné projekty: V projektu „Porozumění biofyzice membrán na atomární úrovni“ zkombinujeme vyvinuté fluorescenční techniky se simulacemi molekulové dynamiky (ve spolupráci s Pavlem Jungwirthem, ÚOCHB AV ČR) a s elektrochemickými studii procesů na úrovni jednotlivých molekul na fosfolipidových monovrstvách a dvojrivrstvách (ve spolupráci s elektrochemickými skupinami Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského). Zaměříme se na zodpovězení vybraných otázek v biofyzice membrán. Ve druhém projektu, „Pokročilá fluorescenční mikroskopie v biologii buněk“, použijeme zkušenosti získané během právě končícího Centra základního výzkumu „Fluorescenční mikroskopie v biologickém a lékařském výzkumu“, které jsem koordinoval, abychom se zabývali aktuálními problémy membránové biologie. Třetí projekt, „Objasnění vztahu dynamiky/hydratace a funkce hydrolytických enzymů“, je založen na unikátních možnostech techniky “solvent relaxation” monitorovat hydrataci a dynamiku aktivního místa enzymů. Ve spolupráci s Jiřím Damborským (Masarykova univerzita v Brně) chceme přispět k porozumění role těchto parametrů při designu proteinů.

Dynamický rozvoj mé skupiny byl umožněn díky podpoře Ústavu fyzikální chemie J. Heyrovského a také díky naší úspěšnosti v získávání externích finančních zdrojů pro platy pracovníků a vybavení laboratoří. Zároveň jsme zapojili velké množství studentů doktorského studia, a tím i podpořili vědeckou kariéru několika výjimečných mladých vědců. To potvrzuje fakt, že tito naši dřívější doktorští studenti (Jana Humpolíčková, Jan Sýkora a Aleš Benda) získali prestižní ocenění Česká hlava v kategorii Doctorandus, cenu Ministerstva školství, mládeže a tělovýchovy pro vynikající studenty, Stipendium L'Oréal pro ženy ve vědě či Cenu Josefa Hlávky. Navíc jsme v nedávné době získali prostřednictvím Purkyňova stipendia nového člena skupiny Marka Cebecauera, jehož zkušenosti dále posílí biologickou relevanci výsledků získaných pomocí našich pokročilých fluorescenčních metod. Deset let po přijetí prvního Ph.D. studenta mi získání ceny Praemium Academiae dovoluje dále rozvíjet filozofii podporování vybraných mladých vědců a zintenzivnit naši snahu o řešení aktuálních biofyzikálních a biologických otázek na atomární či molekulární úrovni.

Díky pokročilým fluorescenčním metodám vyvinutým v naší skupině se můžeme zabývat fundamentálními biofyzikálními a biologickými problémy a poskytovat nové důležité poznatky v biofyzice membrán, v molekulární biologii membrán i v proteinovém inženýrství. Podařilo se nám vytvořit v České republice novou výzkumnou linii, která může úspěšně soutěžit s laboratoři v Evropě, Severní Americe a Asii. Skutečnost, že do práce na těchto třech přednesených projektech bude zapojena řada vynikajících mladých vědců, garantuje další dynamický rozvoj těchto výzkumných oblastí.

Reference (členové naší skupiny jsou vyznačeni tučně)

- (1) **Hof, M.** *Solvent Relaxation in Biomembranes. Applied Fluorescence in Chemistry, Biology and Medicine.* (1998), ed. Rettig, W.; Strehmel, B.; Schrader, S.; Seifert, H., Berlin: Springer, 439-456, ISBN 3-540-64451-2.
- (2) **Sýkora, J.**; Kapusta, P.; Fidler, V.; **Hof, M.** *On What Time-Scale Does Solvent Relaxation in Phospholipid Bilayers Happen?* (2002), *Langmuir*, 18, 571–574.
- (3) **Jurkiewicz, P.**; **Cwiklik, L.**; Jungwirth, P.; **Hof, M.** *Lipid hydration and mobility: An interplay between solvent relaxation experiments and molecular dynamic simulations.* *Biochimie*, revised version submitted.
- (4) **Benda, A.**; **Beneš, M.**; **Mareček, V.**; **Lhotský, A.**; Hermens, W.Th.; **Hof, M.** *How to Determine Diffusion Coefficients in Planar Phospholipid Systems by Confocal Fluorescence Correlation Spectroscopy.* (2003), *Langmuir* 19, 4120–4126.
- (5) **Macháň, R.**; **Hof, M.** *Lipid diffusion in planar membranes investigated by fluorescence correlation spectroscopy.* *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes* 2010, 1798, 1377–1391.
- (6) **Humpolickova, J.**; **Benda, A.**; **Sykora, J.**; **Machan, R.**; **Kral, T.**; **Gasinska, B.**; Enderlein, J.; **Hof, M.** *Equilibrium dynamics of spermine-induced plasmid DNA condensation revealed by fluorescence lifetime correlation spectroscopy* *Biophysical Journal* 2008, 94, L17–19.
- (7) **Humpolíčková, J.**; **Benda, A.**; **Macháň, R.**; Enderlein, J.; **Hof, M.** *Dynamic saturation optical microscopy: employing dark-state formation kinetics for resolution enhancement.* *Physical Chemistry Chemical Physics* 2010, 12, 12 457–12 465.
- (8) **Olžýnska, A.**; **Zaň, A.**; **Jurkiewicz, P.**; **Sýkora, J.**; Gröbner, G.; Langner, M.; **Hof, M.** *Molecular interpretation of fluorescence solvent relaxation of Patman and 2H NMR experiments in phosphatidylcholine bilayers* *Chemistry and Physics of Lipids* 2007, 147, 69–77.
- (9) **Barucha-Kraszewska, J.**; Kraszewski, S.; **Jurkiewicz, P.**; Ramseyer, Ch.; **Hof, M.** *Numerical studies of the membrane fluorescent dyes dynamics in ground and excited states.* *Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes* 2010, 1798, 1724–1734.
- (10) Vacha, R.; Siu, S. W. I.; Petrov, M.; Bockmann, R. A.; **Barucha-Kraszewska, J.**; **Jurkiewicz, P.**; **Hof, M.**; Berkowitz, M. L.; Jungwirth, P. *Effects of alkali cations and halide anions on the DOPC lipid membrane* *Journal of Physical Chemistry A* 2009, 113, 7235–7243.
- (11) Vácha, R.; **Jurkiewicz, P.**; Petrov, M.; Berkowitz, M. L.; Böckmann, R. A.; **Barucha-Kraszewska, J.**; **Hof, M.**; Jungwirth, P. *Mechanism of Interaction of Monovalent Ions with Phosphatidylcholine Lipid Membranes.* *Journal of Physical Chemistry B* 2010, 114, 9504–9509.
- (12) **Beranová, L.**; **Cwiklik, L.**; **Jurkiewicz, P.**; **Hof, M.**; Jungwirth, P. *Oxidation Changes Physical Properties of Phospholipid Bilayers: Fluorescence Spectroscopy and Molecular Simulations* *Langmuir* 2010, 26, 6140–6144.
- (13) Volinsky, R.; **Cwiklik, L.**; **Jurkiewicz, P.**; **Hof, M.**; Jungwirth, P.; Kinnunen, P. K. J. *Oxidised Phosphatidylcholones reconstitute phospholipid “scramblase” activity in liposomes.* *Biophysical Journal*, revised version submitted.
- (14) Huranová, M.; Jablonski, J. A.; **Benda, A.**; **Hof, M.**; Staněk, D.; Caputi, M. *In vivo detection of RNA-binding protein interactions with cognate RNA sequences by fluorescence resonance energy transfer* *R N A* 2009, 2063–2071.

- (15) Norris, S. C. P.; **Humpolíčková, J.**; Amler, E.; Huranová, M.; Buzgo, M.; **Macháň, R.**; **Hof, M.** *Raster image correlation spectroscopy as a novel tool to study interactions of macromolecules with nanofiber scaffolds.* Acta Biomaterialia, revised version submitted.
- (16) Huranova, M.; Ivani, I.; **Benda, A.**; Poser, I.; Brody, Y.; **Hof, M.**; Shav-Tal, Y.; Neugebauer, K.; Stanek D. *The differential interaction of snRNPs with pre-mRNA reveals splicing kinetics in living cells.* Journal of Cell Biology 2010, 191, 75–86.
- (17) **Sykora, J.**; Bourova, L.; **Hof, M.**; Svoboda, P. *The effect of detergents on trimeric G-protein activity in isolated plasma membranes from rat brain cortex: Correlation with studies of DPH and Laurdan fluorescence* Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes **2009**, 1788, 324.
- (18) Brejchová, J.; **Sýkora, J.**; Roubalová, L.; Ostašov, P.; Vošahlíková, M.; **Hof, M.**; Svoboda, P. *Fluorescence spectroscopy studies of HEK293 cells expressing DOR-Gi1α fusion protein; the effect of cholesterol depletion* Biochimica Et Biophysica Acta-Biomembranes, revised version submitted.
- (19) Hovorka, O.; Šubr, V.; Větvička, D.; Kovář, L.; Strohalm, J.; Strohalm, M.; **Benda, A.**; **Hof, M.** Ulbrich, K.; Říhová, B. *Spectral analysis of doxorubicin accumulation and the indirect quantification of its DNA intercalation.* European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 76 (2010), s. 514–524.
- (20) Doc. E. Zažimalová invited us to join a research centre application coordinated by her.
- (21) Owen, D. M.; Oddos, S.; Kumar, S.; Davis, D. M.; Neil, M. A.; French, P. M.; Dustin, M. L.; Magee, A. I.; **Cebecauer M.** *High plasma membrane lipid order imaged at the immunological synapse periphery in live T cells.* Molecular Membrane Biology 2010 27(4–6): 178–89.
- (22) Jesenska, A.; **Sýkora, J.**; **Olžýnska, A.**; Brezovský, J.; Zdráhal, Z.; Damborský, J.; **Hof, M.** *Nanosecond Time-Dependent Stokes Shift at the Tunnel Mouth of Haloalkane Dehalogenases.* Journal of the American Chemical Society 2009, 131, 494–501.