



Prof. RNDr. Karel Bezouška DSc.

**Katedra biochemie**

Univerzita Karlova Přírodovědecká fakulta

Hlavova 8

12840 Praha 2

Tel. +2-2195-1272 Fax.+2-2195-2331

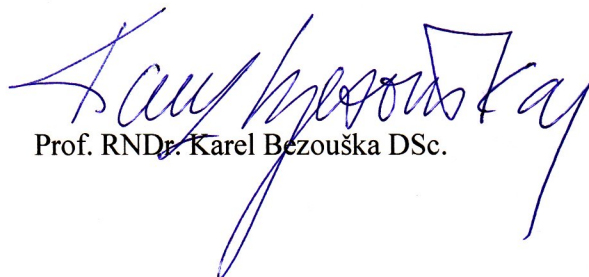
E-mail: bezouska@biomed.cas.cz

**Posudek školitele na doktorskou dizertační práci Mgr. Hynka Mrázka nazvanou „ $\alpha$ -N-acetylgalactosaminidase as a tool in the synthesis of complex oligosaccharide immune stimulators“**

Tématika experimentální práce Mgr. Hynka Mrázka v průběhu čtyř let jeho doktorského studia se poněkud měnila, a zahrnovala izolaci a charakterizaci klíčových enzymů fungálního původu nezbytných pro syntézu komplexních oligosacharidových sekvencí, přípravu nových sacharidových mimetik a sledování jejich interakce s receptory přirozených zabíječských buněk při imunomodulacích, studium vlivu glykosylace na funkční aktivitu proteinů, a glykomické studie změn povrchové nádorové glykosylace. Ne vše z původně velmi ambiciozních plánů se samozřejmě podařilo splnit a dotáhnout až do publikačního stádia. Vlastní experimentální práce se nakonec soustředila zejména na rekombinantní expresi unikátního enzymu  $\alpha$ -N-acetylgalaktosaminidasy z plísně *Aspergillus niger*, který byl v nedávné době získán ve spolupracující Laboratoři biotransformací na MBÚ AV ČR. Při této experimentální práci se objevila řada problémů, a několik výzkumných cest nakonec skončilo ve slepé uličce když postupně selhala exprese v bakteriích i kvasince *Pichia pastoris*. Za této nepříznivé situace je třeba ocenit zejména Hynkovu vytrvalost a samostatnost, kdy se nenechal počátečnímu úspěchu odradit, získal zkušenosti v několika odborných skupinách v Praze, a problém se mu nakonec podařilo vyřešit. Při expresi výše uvedeného enzymu v kvasince *S. cerevisiae* byly získány velmi cenné výsledky, a to jak z hlediska základního poznání tak i praktických aplikací. Hlavním výsledkem doktorského studia Hynka Mrázka tedy jsou výsledky uveřejněné v pěti publikacích a jedné patentové přihlášce, přičemž na jedné publikaci (v současné době v tisku) a patentové přihlášce se Hynek podílel zásadním způsobem jako principiální autor. Mezi další aktivity Hynka v průběhu doktorského studia, které bych rád zmínil, patří získání grantu GAUK, který Hynek velmi samostatně řešil, pravidelná účast na praktikách organizovaných katedrou biochemie, a účast na dvou kursech týkajících se bioinformatiky v glykobiologii (Heidelberg 2007), a hmotnostní spektrometrie v glykomicce (Imperial College London 2009).

Vlastní dizertační práce je předložena v rozsahu 105 stran základního textu, 79 stran příloh, 30 obrázků, a 107 citací. Práce je psána v angličtině a členěna obvyklým způsobem. V úvodu je velmi cenná zejména kapitola o chemických metodách proteinové glykosylace otevírající perspektivy i pro naše další snažení v rámci evropského projektu COST. Velká pozornost je věnována popisu jednotlivých metodik, z nichž řadu kandidát pro svůj výzkum významným způsobem modifikoval oproti standardním protokolům. Diskuse je věcná a otevírá perspektivu dalšího výzkumu. Vzhledem k těmto okolnostem se domnívám, že kandidát i práce **splňují veškeré požadavky** a plně práci **doporučuji k obhajobě a dalšímu řízení.**

V Praze dne 25.8.2011

  
Prof. RNDr. Karel Bezouška DSc.