



**MIKROBIOLOGICKÝ ÚSTAV
AKADEMIE VĚD ČESKÉ REPUBLIKY**

Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4 - Krč, Česká republika

SEKTOR BIOGENEZE A BIOTECHNOLOGIE PŘÍRODNÍCH LÁTEK

Oponentský posudek disertační práce

Autor: Mgr. Jiří Břicháč

Název: Využití chirálních separací pro stanovení enantioselektivity enzymů

Předložená disertační práce se zabývá různými oblastmi chirální analýzy a měla několik hlavních cílů:

1. Studium podstaty enantioselektivní oxidace trans-4-hydroxy-2-nonenalu (HNE) v mozkové mitochondrii v závislosti na typu aldehyd dehydrogenázy.
2. Vývoj a validace přímých a nepřímých RP HPLC metod pro stanovení produktu oxidace HNE, tj. kyseliny trans-4-hydroxy-2-nonenové (HNEA).
3. Vývoj chirálních metod pro analýzu epoxidů a diolů.

Dva z výše uvedených cílů úzce souvisí s oxidativním stresem jehož produkty, kyslíkové radikály, peroxid vodíku a hydroxylový radikál, mohou způsobovat vážná onemocnění. Jedním z produktů štěpení lipidů vlivem oxidativního stresu je právě první studovaná látka HNE, který je považován za jeden z nejreaktivnějších produktů a může se proto významně podílet na vzniku některých neurodegenerativních onemocnění. K naplnění prvního cíle autor nejdříve připravil pomocí enzymatického štěpení čisté enantiomery HME, ze kterých byly oxidací připraveny jejich očekávané produkty, tj. opticky čisté HNEA. Dále byly čisté enantiomery HNE použity pro studium mechanismu oxidativní reakce mitochondriálními aldehyd dehydrogenázami.

V další části práce se autor věnoval vývoji a validaci metod pro přímé i nepřímé stanovení enantiomerů HNEA a nepřímou metodu aplikoval pro jejich stanovení v lyzátu mitochondrií z krysího mozku.

Výsledky vztahené k prvním dvěma cílům disertační práce byly publikovány ve čtyřech impaktovaných publikacích a o jejich kvalitě nelze pochybovat.

Posledním a jen zdánlivě odtažitým cílem disertační práce bylo vyhledávání nových epoxid hydroláz pro biotransformaci glycidyl derivátů. K tomuto účelu byla vyvinuta enantioselektivní metoda stanovení produktů biotransformace pomocí plynové chromatografie. Metoda byla optimalizována a využita pro stanovení tert-butyl glycidyl etheru a allyl glycidyl etheru při testování hydrolytické aktivity více jak 30-ti mikrobiálních kmenů. Výsledky této části práce byly publikovány v jedné impaktované publikaci.

Závěrem lze konstatovat, že výsledky shrnuté v této disertační práci dokumentují významnou roli chirálních analýz pro objasnění mechanismu enzymatických reakcí a to jak v oblasti humánní tak i mikrobiální.



**MIKROBIOLOGICKÝ ÚSTAV
AKADEMIE VĚD ČESKÉ REPUBLIKY**

Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4 - Krč, Česká republika

SEKTOR BIOGENEZE A BIOTECHNOLOGIE PŘÍRODNÍCH LÁTEK

Předložená disertační práce je zpracována velmi pečlivě a z hlediska přehlednosti, vyváženosti a úpravy ji nelze nic vytknout. K předložené disertační práci mám následující doplňující dotaz.

Lze předpokládat využití výsledků prezentovaných v obou částech disertace?

Závěrem mohu konstatovat, že doktorand prokázal požadované tvůrčí schopnosti a předložená disertační práce splňuje všechny podmínky na ni kladené. Z tohoto důvodu doporučuji předloženou práci k dalšímu řízení.

V Praze, dne 20.8. 2009

Vypracoval: RNDr. Miroslav Flieger, CSc.