

Posudek školitele

Diplomová práce

Tomáš Filipi: Fungální α -N-acetylgalaktosaminidasa – screening, produkce a charakterizace enzymu

PřF UK Praha

Práce Tomáše Filipiho se zabývá vyhledáváním, charakterizací a částečnou purifikací extracelulárního enzymu *exo- α -N-acetylgalaktosaminidasy* u vláknitých hub. Jde o celkem vzácný enzym, a to především u eukaryotních producentů. Tento enzym má však značný aplikační potenciál v biomedicině a kromě toho je velmi zajímavý i z evolučního a strukturního hlediska ve srovnání s příslušnými α -galaktosidasami.

Autor zahájil svoji práci důkladnou literární a teoretickou studií zpracovanou v ročníkové práci. Tuto část mohl pak využít v rozsáhlém a důkladném teoretickém úvodu diplomové práce. Posléze byl pak postaven před náročný úkol vyhledání vhodného producenta enzymu, kdy i přes rozsáhlý screening se nalezené aktivity pohybovaly ve stěží měřitelných stopových množstvích. Nakonec potvrdil známé paradigma vyhledávacích studií – totiž že úspěšnost screeningu je přímo úměrná množství otestovaných kmenů. Právě velké pracovní úsilí dokumentované rozsáhlým souborem kultivací nakonec vedlo k úspěchu, tj. nalezení vhodného producenta enzymu, optimalizaci produkčního média a kultivačních podmínek. Na tomto místě bych chtěl ocenit nejen pracovitost autora, ale především jeho silnou vůli k dosažení výsledků.

Zvládnutí produkce α -N-acetylgalaktosaminidasy poté umožnilo základní biochemickou charakterizaci enzymu nutnou pro zahájení purifikačních experimentů. Zde bych chtěl upozornit na velmi neobvyklý poznatek, získaný během práce, a to zjištění extrémního pH optima enzymu (pH 1.5). Toto má zřejmě úzkou souvislost s acidofilitou produkčních kmenů a při této příležitosti žádám autora, aby tento fakt vysvětlil při obhajobě ve všech souvislostech.

Autor pak vyvinul purifikační protokol, který vedl ke získání téměř čistého enzymu, což umožní další strukturální a syntetické práce s tímto proteinem. Optimalizace purifikace a další proteomické studie budou následovat.

Na závěr bych chtěl konstatovat, že autor zvládl nelehký úkol, kde musel překonávat značné obtíže, které nebyly při počátečním zadání práce zcela zřejmé. Diplomant při práci použil širokou škálu metod z repertoaru mikrobiologie, biochemie a proteomiky. Právě díky tomuto multidisciplinárnímu přístupu byla nakonec jeho práce korunována úspěšným řešením nelehkého problému.

Závěr: Práci doporučuji k přijetí k obhajobě na Katedře botaniky PřF UK a doporučuji klasifikaci “ v ý b o r n ě “.

v Praze 22. 5. 2006

Prof. Ing. Vladimír Křen, DrSc.

Vedoucí laboratoře biotransformací MBÚ AV ČR