



Posudek doktorské disertační práce Ing.F.Škroba

Doktorská disertační práce Ing. Františka Škroba nazvaná “Nová penicilin-G-acylasy z bakteriálního kmene *Achromobacter* sp. CCM 4824“ se zabývá izolací a charakterisací v názvu uvedeného enzymu z kmene, který byl vytypován jako velmi slibný po skrínungu v Mikrobiologickém ústavu AVČR.

Literární část práce je obsáhlá a vyčerpávající a svědčí o tom, že doktorand se se studovanou problematikou dobře seznámil, a to z nejrůznějších hledisek. V závěru literární části jsou shrnuty dosud známé vlastnosti kmene *Achromobacter* sp. CCM 4824, který je zdrojem studovaného enzymu penicilin-G-acylasy.

Metodická část popisuje použité metody a ukazuje na to, jak byla práce různorodá a vyžádala si zvládnutí mnoha mikrobiologických a biochemických technik, počínaje kultivací mikroorganismu, izolací a purifikací enzymu, jeho charakterisací a využití pro syntézu β -laktamových antibiotik. Řada použitých metod patří mezi nejmodernější používané metody.

Ve výsledkové části jsou přehledně uvedeny výsledky, dobře dokumentované grafy a tabulkami. Výsledky jsou poté v samostatné části diskutovány. Z výsledků považují za nejhodnotnější část tu, která se zabývá charakterisací izolovaného enzymu, i když si uvědomují, že nejpracnější byla pravděpodobně izolace a purifikace enzymu. Při charakterisaci totiž byly získány nejcennější výsledky, které ukázaly vlastnosti tohoto enzymu, zejména jeho substrátovou specifitu, již se odlišuje od známých penicilinacylas a které naznačují možnost jeho uplatnění v praxi. Jde zejména o možnost využití při syntéze β -laktamových antibiotik. Mimo jeho disertační práci je tato možnost v praxi již skutečně testována.

Práce má velmi dobrou formální úroveň, dodržuje obvyklé členění kapitol a má minimum překlepů a chyb. Pokud jde o jazykovou úroveň, nemohu se nezmínit o tom, že se autor občas dopouští prohrěšků proti češtině (vychytání enzymu, zamrazeno, roztok rozpipetován, frakce otestovány ap.), které vyplývají z určitého slangu běžně v laboratořích používaného. V písemném projevu by se však tyto formulace neměly objevit.

Disertační spis je doplněn o autoreferát v češtině a angličtině, který velmi přehledně a stručně seznamuje čtenáře se studovanou problematikou a s dosaženými výsledky, které současně i hodnotí.

K práci mám několi připomínek a dotazů, jimiž však nechci hodnotu práce zpochybnit, pouze vyjasnit některé body.

- a) Byla stanovena aktivita peptidhydrolas v buněčné suspensi? Byla testována možnost jejich inhibice?
- b) Jaká byla specifická aktivita u spojených frakcí po první a druhé ionexové chromatografii?
- c) Gelová permeační chromatografie posloužila při odhadu molekulové hmotnosti a při zjištění počtu podjednotek. Proč jste ji ale zařadil do purifikačního procesu, když už nedošlo k dalšímu přečištění (viz SA a elektroforesa) a výtěžnost vykazovala značné ztráty?



Závěrem konstatuji, že práci považuji za velice zdařilou, splňující jak zadané úkoly, tak požadavky kladené na doktorskou disertační práci. Část práce již byla publikována v zahraničních renomovaných časopisech s velmi dobrým impakt faktorem, takže již prošla přísnou recenzí nezávislými posuzovateli. **Předloženou disertační práci proto doporučuji jako podklad pro další řízení k získání titulu PhD v oboru mikrobiologie**

24.8.2007

Prof.Ing.Blanka Králová, CSc.