



6A

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
Přírodovědecká fakulta
Katedra analytické chemie
128 43 Praha 2, Albertov 6, fax. 224 913 538

**Posudek školitelů diplomové práce pana Zdeňka Kameníka
Stanovení prekursorů linkomycinu v kultivačním mediu *Streptomyces
lincolnensis* pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie
s fluorescenční detekcí**

V rámci magisterského studijního programu analytická chemie vypracoval v roce 2007 pan Zdeněk Kameník diplomovou práci s názvem *Stanovení prekursorů linkomycinu v kultivačním mediu Streptomyces lincolnensis pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s fluorescenční detekcí*. Pan Zdeněk Kameník svoji práci vypracoval na Katedře analytické chemie PŘF UK, praktickou část diplomové práce realizoval v Laboratoři genetiky, fyziologie a bioinženýrství hub Mikrobiologického ústavu Akademie věd ČR.

V Mikrobiologickém ústavu AV ČR nastoupil pan Zdeněk Kameník jako pomocná vědecká síla v září 2005. Okamžitě se zapojil do chodu laboratoře a brzy si osvojil základy používaných metod: extrakce na pevné fázi, vysokoúčinné kapalinové chromatografie, ultraúčinné kapalinové chromatografie a kapilární zónové elektroforézy. Asistoval při vývoji a validaci nových analytických metod stanovení sekundárních metabolitů produkovaných bakterií *Streptomyces lincolnensis* a houbou *Pseudallescheria Boydii*. Nad rámec svých povinností zvládnul metodu inaktivace genu pomocí metody REDIRECT po kurzu *Molekulárně biologických metod* konaném v laboratoři Biologie sekundárního metabolismu MBÚ AV ČR.

Tyto komplexní znalosti pan Zdeněk Kameník spojil a využil ve své diplomové práci. Jeho hlavním úkolem bylo vyvinout analytickou metodu stanovení 4-propylprolinu a N-demethyllinkomycinu v matrici kultivačního média *Streptomyces lincolnensis*. Stanovení těchto dvou látek v dané matrici nebylo dosud popsáno.

Na základě dedukce a podobnosti s jinými již dříve popsány látkami vybral možné způsoby derivatizace a stanovení metodou HPLC s fluorescenční detekcí. Takto zvolené metody však nevyhovovaly vysokým nárokům na selektivitu a limit detekce, proto bylo nutné je upravit či dokonce zcela přepracovat.

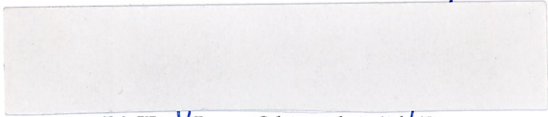
Pan Zdeněk Kameník vyvinul metody stanovení pro obě zadané látky, optimalizoval podmínky derivatizační reakce a chromatografické podmínky. Metody částečně zvalidoval tak, aby byly použitelné pro stanovení reálných směsí. Meze detekce a kvantifikace, kterých dosáhl, spolehlivě postačují ke sledování koncentračních hladin analytů v kultivačním mediu a tím následně k posuzování funkce proteinů účastnících se biosyntetické dráhy linkomycinu. Přítomnost 4-propylprolinu byla prokázána ve dvou reálných vzorcích, N-demethyl-linkomycin nebyl potvrzen v žádném z testovaných vzorků. Tato skutečnost koreluje

s předpokládaným faktem, že byl inaktivován gen, který je zodpovědný za část biosyntézy předcházející vzniku N-demethylkomycinu.

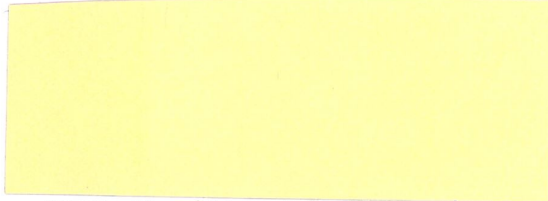
Pan Zdeněk Kameník pracoval na zadané problematice systematicky a zcela samostatně. Vysoce oceňujeme jeho rešeršní práci, kdy prokázal dobrou orientaci v informačních zdrojích, a hlavně praktické využití získaných informací. Experimentální výsledky samostatně vyhodnocoval a interpretoval bez větších obtíží. Po dokončení projektu budou jeho data publikována v zahraničním časopise.

Předkládaná diplomová práce pana Zdeňka Kameníka splňuje svým rozsahem i obsahem všechny faktické i formální požadavky na diplomové práce kladené, a proto ji plně doporučujeme k dalšímu řízení.

V Praze, 10. května 2007.



RNDr. ^vJana Olšovská, Ph.D



RNDr. Karel Nesměrák, Ph.D. |