Oponentský posudek disertační práce Mgr. Pavly Fialové “Modified substrates in β-*N*-acetylhexosaminidase-catalyzed synthesis“

Základním tématem předložené disertační práce jsou β-*N*-acetylhexosaminidasy komplexně studované z několika pohledů: stereochemie aktivního centra a specifita enzymů z různých zdrojů jako východisko pro hledání účinných inhibitorů; využití enzymů k synthese nových disacharidů jako ligandů aktivačního proteinu přirozených zabíječských buněk a konečně modifikace skeletu substrátů a testování tolerance enzymů k těmto změnám. Vedle znalostí čistě biochemických musela disertantka zvládnout i oblast organické chemie sacharidů, což bylo vyvoláno mezioborovým tématem disertační práce. Byla členkou širokého badatelského týmu, takže její výsledky jsou konfrontovány např. i s matematickým modelováním aktivního centra enzymů a komplexů enzym-substrát. V průběhu studia absolvovala několik zahraničních stáží, což se projevilo na zvýšení odborné kvality disertační práce. Výsledky byly publikovány ve čtyřech původních sděleních v časopisech s vysokým impaktovým faktorem a rovněž jsou součástí vyžádaného přehledového článku. Tím je odborná úroveň výsledků nezpochybnitelně dokázána a já hned na tomto místě posudku mohu konstatovat, že disertantka se vyrovnala s úkoly disertace na výborné úrovni a prokázala, že má schopnost samostatně vědecky pracovat.

Disertační práce je souhrnem publikací doplněných krátkým a výstižným komentářem. Nicméně i za těchto podmínek se do textu dostalo několik chyb a opomenutí: na s. 12 je citována kapitola 1.2.4.4, která ale v práci není; v úvodu a i v dalším textu se opakuje, že hydroxylová skupina byla oxidována na aldehydickou nebo karboxylovou, což jistě není pravda; na s. 23 je vzorec sloučeniny **11**, která podle textu má mít konfiguraci *gluko*; v seznamu zkratek se objevují normální vzorce (natrium borohydrid, hydroxylová či karboxylová skupina), což nepůsobí příliš dobře; volná aminoskupina jistě není nabitá (s.21).

K disertaci mám následující otázky:

- Jak lze rozumět vysvětlení, proč některé sloučeniny nebyly substráty, ačkoliv se vázaly do aktivního centra enzymu, které bylo formulováno jako „another level of the dynamic part of the hydrolytic process“ (s. 21)?
- Sloučeniny **16** – **18** jsou v práci označeny jako možné kompetitivní inhibitory (s. 27) a to na základě výpočtu energie komplexu enzym-substrát. Podle mého názoru je to velmi slabý důkaz. Proč nebyla měřena kinetika inhibice standardním způsobem, která by tuto hypothesu potvrdila nebo vyvrátila?

Disertantka předložila disertační práci, která na požadované odborné úrovni řeší originální tématiku vycházející z koncepce mateřského a spolupracujících pracovišť. Odvedený objem experimentální práce svědčí o její pracovitosti a zaujetí pro vědeckou práci, disertace dokládá její schopnost samostatně vědecky pracovat.

Z těchto důvodů doporučuji podle podle §47, odst. 4, zákona č. 111/1998 Sb. přijetí disertační práce Mgr. Pavly Fialové k dalšímu řízení pro získání titulu PhD.

V Praze den 6.6.2006

Prof. Ing. Jitka Moravcová, CSc.