

OPONENTSKÝ POSUDEK

doktorské disertační práce RNDr. Pavly Fialové

"Modified substrates in β -N-acetylhexosaminidase-catalyzed synthesis"

Téma předkládané disertační práce RNDr. Pavly Fialové spadá do oblasti biokatalýzy a je zaměřeno na využití nových enzymových reakcí k syntéze glykosidů. Řešený problém je součástí dlouhodobého výzkumu školícího pracoviště doktorandky vedeného prof. Křenem, což umožnilo autorce navázat na zkušenosti a výsledky předcházejících studií.

Autorka se zaměřila na studium substrátové specifity a využitelnosti β -N-acetylhexosaminidasy k syntézám nových glykosidů. Metodami chemické a chemoenzymové syntézy připravila řadu substrátů - nitrofenylglykosidů modifikovaných v polohách C-1, C-2, C-6 a prostudovala jejich afinitu k β -N-acetylhexosaminidasám různého původu. Experimentálně zjištěné rozdíly v substrátové specifitě enzymů diskutovala s využitím molekulárního modelování vazby testovaných substrátů a mechanismu jejich transformace v aktivním místě enzymu. K zajímavým poznatkům patří zjištění, že substráty modifikované zavedením nitrilové skupiny do polohy C-6 jsou slabými substráty většiny z testovaných β -N-acetylhexosaminidas a chovají se spíše jako kompetitivní inhibitory. Autorka vybrala nejúčinnější enzymy a vhodné substráty pro studium možnosti přípravy glykosidů transglykosylací v semi-preparativní měřítku. Výsledkem byla optimalizovaná příprava 8 oligosacharidů, z nichž 6 bylo izolováno a charakterizováno poprvé. Významným přínosem je zavedení nové metodologie k přípravě glykosidů v dobrých výtěžcích s využitím glykosylazidů jako donorů pro transglykosylační reakce.

Autorka se věnovala i studiu biologické aktivity některých nově připravených substrátů (modifikované oxidací v poloze C-6) a oligosacharidů, konkrétně jejich potenciálních imunomodulačních vlastností. Prioritní zjištění, že 2 z testovaných látek vykazují vysokou afinitu k aktivačním receptorům zabíječských lymfocytů (killer cells), může vést k praktickému využití studovaných substrátových modifikací k vývoji terapeuticky vhodných glykomimetik.

Ke splnění cílů disertační práce odvedla doktorandka značné množství experimentální práce množství experimentální práce s využitím široké škály moderních metodik zahrnující postupy organické syntézy, analytické a separační metody, biochemické a mikrobiologické techniky. Výsledky práce plně odpovídají stanoveným cílům. Z výčtu výsledků vyplývá, že autorka vytýčené cíle splnila a získala řadu nových, původních poznatků, které byly již publikovány v renomovaných vědeckých periodikách.

Disertační práce je předkládána jako soubor pěti publikací disertantky (ve 3 případech je první autorkou), které vznikly jako v rámci doktorandského studia a řešení vytýčeného problému. Soubor je doplněn koncizním úvodním komentářem v anglickém jazyce, který uvádí čtenáře do problematiky, předkládá cíle práce, použité metody, přehled všech nově připravených sloučenin a ve stručné formě diskutuje dosažené výsledky. Jednou z publikací je vyžádaná kapitola do monografie zaměřená na úlohu glykosidas v enzymové syntéze glykosidů, která dokládá rozsáhlé znalosti disertantky v problematice jejího výzkumu i její schopnost třídit a logicky formulovat literární informace.


K práci nemám připomínky, nicméně bych ráda položila následující otázky jako náměty do diskuse:

- Jaké další strukturní modifikace substrátů by mohly být perspektivní pro zvýšení transglykosylační účinnosti β -N-acetylhexosaminidas?
- Jaký byl Váš vlastní podíl na molekulárním modelování?

Závěr:

Předložená disertační práce RNDr. Pavly Fialové je hodnotným příspěvkem k řešení multidisciplinárního projektu zaměřeného na výzkum mikrobiálních glykosidas a jejich využití pro syntetické účely. Přináší původní výsledky, které byly již přijaty vědeckou komunitou, vesměs k zveřejnění v zahraničních impaktovaných časopisech. Autorka prokázala rozsáhlé znalosti v dané problematice a schopnost samostatné tvůrčí vědecké práce. Dle mého názoru splňuje disertační práce RNDr. Pavly Fialové veškeré požadavky na kvalitní doktorskou práci. Na základě tohoto hodnocení **doporučuji předloženou práci k obhajobě a řízení k udělení akademického titulu PhD** dle par. 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb.

Olomouc 16.5.2006.


Doc. RNDr. Daniela Walterová, Csc.
Ústav lékařské chemie a biochemie LF UP