

# POSUDEK NA DOKTORSKOU DISERTAČNÍ PRÁCI

**Název práce:** VÝVOJ A APLIKACE AFINITNÍHO NOSIČE PRO IZOLACI LIDSKÝCH KARBONYL-REDUKUJÍCÍCH ENZYMŮ

**Autor:** Mgr. Rudolf Andrýs

**Oponent:** Doc. RNDr. Dalibor Šatínský, Ph.D.

Předložená disertační práce má celkem 121 stran bez příloh a publikovaných prací. Z celkového rozsahu je 40 stran věnováno teoretické části a problematice karbonyl-redukujících enzymů, metodám izolace a identifikace cílových proteinů a afinitní chromatografii. Další část popisuje experimentální charakter prací a následují výsledky s diskuzemi na 40 stranách, které jsou zakončeny stručným závěrem. Celkově je text práce zpracován návazně a přehledně s minimem gramatických chyb a překlepů. K práci jsou přiloženy dvě publikační přílohy vztahující se k tématu disertace a jedna práce prvoautorská, která pravděpodobně vznikla při zahraniční stáži a s tématem disertace úzce nesouvisí, jak autor předesílá.

Z hlediska experimentální části je rozsah experimentů vyvážený a pokrývá ucelenou problematiku strategie přípravy afinitních nosičů. Dosažené výsledky jsou podloženy dvěma publikačními výstupy a prokazují systematický přístup uchazeče k řešení zadané problematiky. Z tohoto úhlu pohledu byly předložené cíle disertační práce, zmíněné na straně 41, tj. vývoj afinitního nosiče s ligandem oracinem naplněny. Shodují se s autorem práce, že izolace a identifikace enzymů z tkáňových homogenátů představuje obtížný úkol, což potvrzuje diskusní část popisující nejen úspěchy při ověření funkčnosti připravených afinitních nosičů. Je tedy zřejmé, že dva úspěšné publikační výstupy jsou vyvážené značným objemem ne zcela úspěšných experimentů.

## **K disertační práci mám pouze několik připomínek a dotazů:**

1. Str. 28 – pojem mikropartikule bych spíše nahradil pojmem mikročástice.
2. Str. 28, dole – prosím o bližší vysvětlení rizika mechanického poškození separovaných proteinů v závislosti na pórech stacionární fáze.
3. Str. 59 – je skutečně průměrná velikost částic  $Si_{MAG} = 1 \mu m$ ? Jak se nazývá chromatografie na částicích menších než  $2 \mu m$ . Je tato velikost částic běžná pro afinitní chromatografii?
4. Str. 64 dole – prosím o detailnější vysvětlení vztahu porozity nosiče – změny elučních podmínek a uvolnění enzymu.
5. Str. 109 – zkratka RPC – zde by bylo vhodnější použít standardně známou RP-LC

## **Dotazy a náměty do diskuse:**

1. Jaký počet citací má autorova publikace I v časopise J. Sep. Sci?
2. Na str. 74 (konec prvního odstavce) uvádíte – eluce ligandem se ukázala neproveditelná z důvodů nízké rozpustnosti oracinu. Bylo by možné využít malý nedenaturující přídavek např. methanolu cca do 10% ke zvýšení rozpustnosti ligandu oracinu a tím umožnit uvolnění navázaného enzymu? Byl tento přístup testován, případně komentován v odborné literatuře?
3. Které z uváděných elučních strategií se obecně při vašich experimentech nejvíce osvědčily?

### **Závěr a doporučení:**

Předložená disertační práce je kvalitní, publikované výsledky prošly náročným recenzním řízením impaktivních časopisů. Mgr. Rudolf Andrýs prokázal schopnost zvládnout výzkumnou činnost a splnit vytyčené cíle disertační práce.

**Celkově lze konstatovat, že předložená práce splňuje požadavky kladené na disertační práce dle § 47 odst. 4 zákona, a proto ji doporučuji k obhajobě a udělení titulu Ph.D.**

Hradec Králové, 4. 3. 2016

Doc. RNDr. Dalibor Šatínský, Ph.D.  
Univerzita Karlova v Praze  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové