



FAKULTA POTRAVINÁŘSKÉ
A BIOCHEMICKÉ TECHNOLOGIE
VŠCHT PRAHA

Studentská Vědecká Konference

2022

24. 11. 2022

SBORNÍK ANOTACÍ

Fakulta potravinářské a biochemické technologie

Organizační tým

FAKULTNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Michaela Marková, Ph.D.

Mgr. Blanka Morchová

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOŘI

319 ÚSTAV BIOTECHNOLOGIE

prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová

320 ÚSTAV BIOCHEMIE A MIKROBIOLOGIE

doc. Ing. Mgr. Štěpánka Kučková, Ph.D., Ing. Michaela Marková, Ph.D.

321 ÚSTAV SACHARIDŮ A CEREÁLÍ

Ing. Roman Bleha, Ph.D.

322 ÚSTAV MLÉKA, TUKŮ A KOSMETIKY

doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

323 ÚSTAV ANALÝZY POTRAVIN A VÝŽIVY

Ing. Martina Vlčková

324 ÚSTAV KONZERVACE POTRAVIN

Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

342 ÚSTAV CHEMIE PŘÍRODNÍCH LÁTEK

Ing. Elena Prokudina, Ph.D.

Ústav biotechnologie (319)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová

SEZNAM SEKČÍ

1. [Biotechnologie I](#)
2. [Biotechnologie II](#)
3. [Biotechnologie III](#)
4. [Biotechnologie IV](#)

Biotechnologie I

MÍSTO: A12

KOMISE

prof. Dr. Ing. Petra Patáková (předseda)

doc. Ing. Irena Jarošová, Ph.D.

Ing. Marcel Karabín, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Anastasiya Barynava](#) (M2, Ing. Monika Kumherová, Ph.D.)

Polotuhé vaginální přípravky s obsahem laktobacilů

[Bc. Gizem Candir](#) (M2, Ing. Barbora Branská, Ph.D.)

Effect of medium composition on physiology and metabolism of solventogenic clostridia

[Bc. Ivana Jačalová](#) (M2, doc. Ing. Olga Maťátková, Ph.D.)

Vliv extraktů révy vinné na mikroorganismy trávicího traktu

[Bc. Anna Kolková](#) (M2, prof. Ing. Jan Masák, CSc.)

Příprava nanočástic ovlivňujících virulenci rodu Pseudomonas

[Bc. Jakub Maloch](#) (M2, doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.)

Kinetické odezvy biofiltrů s náplňovým materiálem obsahujícím biouhel

[Samuel Novák](#) (B3, prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová)

Using optical tweezers and confocal fluorescence microscopy to study CRISPR-Cas system interactions with DNA

[Bc. Kateřina Nováková](#) (M2, None)

Hodnocení biologické aktivity metabolitů půdních aktinobakterií proti multirezistentním patogenům

[Marsel Prokopev](#) (M2, prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc.)

Application of the magnetic field in malting

[Faustýna Stanislavová](#) (M2, prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová)

Příprava, charakterizace a testování aktivity reverzní transkriptasy M-PMV

[Bc. Eleonora Šperlová](#) (M2, prof. Ing. Tomáš Brányik, Ph.D.)

Kvantitativní stanovení řasového biofilmu

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - BIOTECHNOLOGIE I

arxada

biotech
innovative



avantor™

fisher scientific
part of Thermo Fisher Scientific

MERCK

 **SHIMADZU**
Excellence in Science

Polotuhé vaginální přípravky s obsahem laktobacilů

Bc. Anastasiya Barynava (M2)

Školitel: Ing. Monika Kumherová, Ph.D.

Složení vaginální mikroflóry určuje zdravotní stav ženy. Ve vaginálním traktu zdravé ženy by měly převládat bakterie rodu *Lactobacillus*. Laktobacily produkují kyselinu mléčnou, která brání rozvoji patogenních bakterií. Vybrané kmeny laktobacilů produkují také peroxid vodíku a různé bakteriociny, které vykazují antimikrobiální efekt. Existuje souvislost mezi nepřítomností (resp. nízkou koncentrací) vaginálních laktobacilů a rozvojem vaginálních infekcí. Probiotické přípravky s obsahem laktobacilů se používají k prevenci infekcí vaginálního traktu a močových cest. Použití probiotických bakteriálních kultur stimuluje růst preferovaných mikroorganismů, vytlačuje potenciálně škodlivé bakterie a posiluje přirozené obranné mechanismy systému. V této práci byla sledována stabilita lyofilizovaných laktobacilů, byla sledována jejich antibakteriální a antikandidózní aktivita. Navíc byly sledovány rezistence laktobacilů na antibiotika a autoagregace laktobacilů. Byly připraveny směsi mastí a oleogelů. U vybraných směsí byly dále sledovány obsah tuhých podílů a bod tání. Dále do vybraných směsí byly přidány lyofilizované laktobacily a byla sledována jejich stabilita v dané lékové formě.

Effect of medium composition on physiology and metabolism of solventogenic clostridia

Bc. Gizem Candir (M2)

Školitel: Ing. Barbora Branská, Ph.D.

Solventogenic clostridia species are able to anaerobically metabolize a wide range of carbon sources including saccharides derived from lignocellulosic biomass to produce ethanol, butanol, acetone, acetic and butyric acids. In this work, four strains *Clostridium beijerinckii* NCIMB 8052, *Clostridium beijerinckii* NRRL B-598, *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* DSM 1731, and *Clostridium diolis* DSM 15410 were cultivated in culture media with glucose, xylose and lactic acid as carbon sources. Concentration of metabolites formed, growth rate and sporulation was monitored using ion exchange HPLC, spectrophotometry and phase contrast microscopy, respectively. The next steps of the project will be focused on the effect of changes in the mineral content of the media composition, the impact of CaCO_3 as a buffering substance, and the addition of methyl viologen and neutral red as artificial electron carriers.

Vliv extraktů révy vinné na mikroorganismy trávicího traktu

Bc. Ivana Jačalová (M2)

Školitel: doc. Ing. Olga Mařátková, Ph.D.

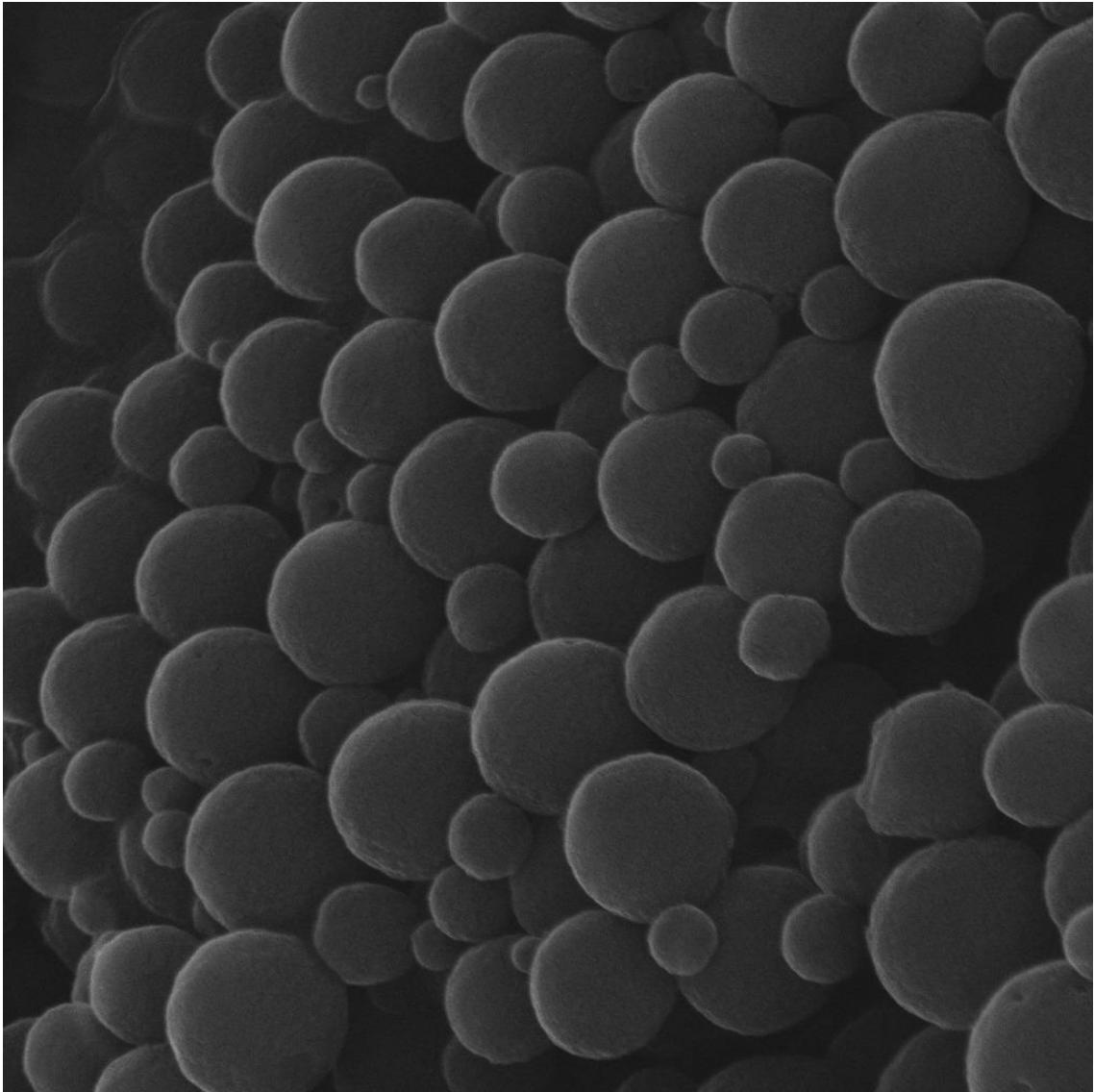
Vedľajšie produkty pri výrobe vína sa ukazujú ako cenný zdroj polyfenolových látok, ktoré môžu mať potenciál pri prevencii ochorení tráviaceho traktu. V tejto práci boli charakterizované etanolové extrakty zo strapín, matolín a letorastov *Vitis vinifera* z hľadiska ich potenciálu pre antioxidačnú aktivitu a obsah významných biologicky aktívnych látok. Bol pozorovaný vplyv extraktov a vybraných antibiotík na tvorbu biofilmu významných oportúnnych patogénov GIT (*Escherichia coli* CCM 4787 sérovar O157:H7, *Bacillus cereus* CCM 2010^T a *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus* CCM 4516) pomocou sledovania metabolickej aktivity buniek s využitím MTT činidla. Analyzované extrakty z *Vitis vinifera* boli zo sledovaných zástupcov stilbenoidov bohaté na katechín, najvyššiu antioxidačnú aktivitu vykazovali extrakty zo strapín, najvyšší celkový obsah polyfenolov extrakty z letorastov. *S. aureus* sa ukázal ako pomerne rezistentný voči ampicilínu (došlo maximálne k 71 % inhibícii). Pri použití extraktov s koncentráciou polyfenolov 100 mg_{GA}/l a vyššie došlo k inhibícii všetkých sledovaných mikroorganizmov oproti kontrole bez ohľadu na druh použitého extraktu.

*Příprava nanočástic ovlivňujících virulenci rodu *Pseudomonas**

Bc. Anna Kolková (M2)

Školitel: prof. Ing. Jan Masák, CSc.

Vzhledem k rychlému nárůstu antimikrobiální rezistence způsobené nadměrným používáním antibiotik je zapotřebí neustále vyvíjet nové antibakteriální látky. Použití nanočástic (NPs) by proto mohlo být vhodnou alternativou ke konvenčním antibiotikům. Cílem této práce je nalezení nejvhodnější metody přípravy biologicky rozložitelných NPs z přírodních polymerů, ligninu (Lig) a chitosanu (CS). Pro přípravu Lig-NPs byly testovány 3 odlišné metody – dialýza, kyselá precipitace a antisolvent metoda. Sférické nanočástice s nejnižším indexem polydisperzity a s velikostí v rozmezí od 50 do 450 nm se podařilo připravit dialýzou při vstupní koncentraci Lig 0,5 mg/ml. V případě CS-NPs byla pro přípravu zvolena metoda iontové gelace. Z důvodu agregace NPs v kultivačním médiu byl nízkomolekulární chitosan v přípravě CS-NPs nahrazen trimethylchitosanem (TMC). TMC-NPs o velikosti v rozmezí 70 až 130 nm se podařilo připravit při poměru reakčních činidel TMC a tripolyfosfátu (TPP) 8,3:1,7 (ml TMC:ml TPP) o vstupních koncentracích 1 mg/ml. Oba úspěšně připravené systémy NPs budou testovány z hlediska antimikrobiální a antivirulenční aktivity vůči *Pseudomonas aeruginosa*.



SEM HV: 30.0 kV	WD: 2.16 mm	 500 nm	MIRA3 TESCAN
View field: 2.77 μ m	Det: In-Beam SE		
SEM MAG: 100 kx	Date(m/d/y): 09/14/22		Performance in nanospace 

Kinetické odezvy biofiltrů s náplňovým materiálem obsahujícím biouhel

Bc. Jakub Maloch (M2)

Školitel: doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.

Kinetické odezvy biofiltrů s náplňovým materiálem obsahujícím biouhel
Bc. Jakub Maloch
Školitel: doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.
Biouhel je pyrolyzovaná biomasa, která se dá použít obdobně jako aktivní uhlí. Na jeho povrchu se nachází množství pórů, které dodávají absorpční vlastnosti. Biouhel je možné využít v biofilmových reaktorech, kde slouží jako jedna ze složek kompozitní náplně jako nosič biofilmu i sorpční složka pro znečišťující látky. Absorbované látky jsou využívány mikroorganismy biofilmu, a tím uvolňují prostor pro zachytávání dalších znečišťujících látek. Cílem práce bylo určit efektivnost tří biofiltrů s majoritním náplňovým materiálem štěpka kořenového dřeva s různou mírou přídavku biouhlu a jejich schopnost odstraňovat butylester kyseliny octové z odpadního vzduchu. Efektivita odstranění za tranzientních stavů byla porovnávána mezi biofiltrem se štěpkou kořenového dřeva bez biouhlu, se štěpkou kořenového dřeva s 10 % biouhlu a s 10 % impregnovaného (minerální látky – zdroje P, N, S apod. pro mikroorganismy) biouhlu. Biofiltr s náplní štěpka kořenového dřeva s 10 % impregnovaného biouhlu vykazoval nejlepší efektivitu odstraňování butylesteru kyseliny octové za tranzientních stavů.

Using optical tweezers and confocal fluorescence microscopy to study CRISPR-Cas system interactions with DNA

Samuel Novák (B3)

Školitel: prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová

Optical tweezers are an instrument that combines laser optics with microfluidics and enables scientists to study biological systems on a single molecular level in real-time. This instrument can trap small particles with a focused laser beam and control their movement. This happens in a flow-cell which is monitored by a built-in optical and confocal microscope. Bacteria *Pseudomonas oleovorans* downregulates its own genes for pili biogenesis via CRISPR interference. Using optical tweezers, we studied the binding of the Cas proteins that target the pili gene. Targeted DNA sequence was prepared via PCR and was biotinylated on both ends. Cas proteins had been received from collaborators and were fluorescently labelled. The protein buffer was optimized with Micro Scale Thermophoresis to mitigate the aggregation. In the flow-cell, two beads coated with streptavidin were trapped with a laser, and DNA was caught in between. Beads with DNA were moved into the channel with Cas proteins, which was monitored by a confocal microscope. After initial optimization, we were able to detect bindings of the Cas proteins on the DNA. Further research will shed more light on the effects of protein factors and DNA tension on the binding, which will provide more understanding of the regulatory pathways.

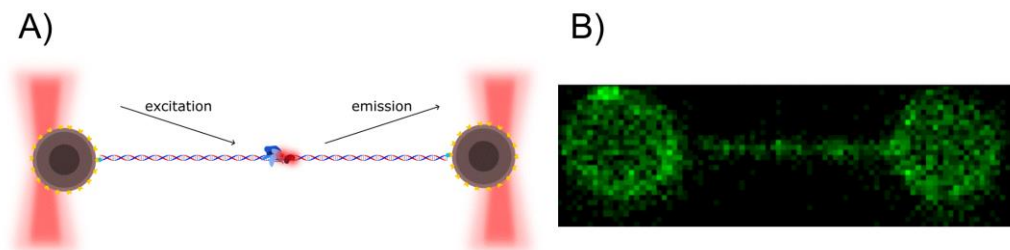


Fig.1. A) Labelled Cas proteins binding to the DNA stretched between the beads. **B)** Fluorescently labelled DNA visualized by confocal microscope

Hodnocení biologické aktivity metabolitů půdních aktinobakterií proti multirezistentním patogenům

Bc. Kateřina Nováková (M2)

Školitel: None

Antibiotická krize je nejvíce skloňovaným problémem současné medicíny. Rezistence patogenů k běžně dostupným antibiotikům vzrůstá a je proto nutné hledat nová řešení léčby bakteriálních infekcí. Jednou z nabízených možností, jak bojovat s těmito patogeny je hledání nových účinných látek. Právě aktinobakterie jsou bohatým zdrojem různorodých specializovaných metabolitů, které by mohly disponovat antibakteriálními vlastnostmi a být tak využity jako nová zbraň v boji s rezistentními patogeny. Tato práce se zabývá hodnocením biologické aktivity extraktů extracelulárních specializovaných metabolitů z půdních aktinobakterií proti sedmi nejvíce znepokojujícím multirezistentním patogenům. Proti daným patogenům bylo otestováno celkem 42 různých extraktů, a to jak diskovou difúzní metodou, tak i metodou diluční. Účinné extrakty byly poté frakcionovány pomocí preparativní kapalinové chromatografie. Získané frakce byly otestovány opět diluční metodou vůči patogenům, které byly citlivé na daný extrakt. Extrakty a frakce s prokázanou biologickou aktivitou budou dále analyzovány za pomoci LC-qTOF-MS s následným vyhodnocením dat prostřednictvím platformy GNPS.

Application of the magnetic field in malting

Marsel Prokopev (M2)

Školitel: prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc.

There have been several reports of electrophysical variables influencing the physiological state of plant seeds. Low-frequency electromagnetic field (LF-EMF) is one of these characteristics that has the most potential since, depending on the length of the treatment and the field frequencies used, it may either encourage or hinder seed germination. The application of LF-EMF in brewing operations, where the seed germination during malting may be enhanced, represents the specific interest. In this study, the impact of LF-EMF therapy on the seeds of eight distinct types of barley was observed and analyzed. The major objective was to determine the best period for seeds to be exposed to EMF, when the beneficial effect on seed germination is greatest.

Příprava, charakterizace a testování aktivity reverzní transkriptasy M-PMV

Faustýna Stanislavová (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová

Reverzní transkriptasy (RT) jsou zcela unikátní enzymy, hrající klíčovou roli v replikačních cyklech jak endo- tak exogenních virů. RT umožňuje reverzní transkripci, tedy syntézu provirové komplementární DNA. Za účelem studie RT z Mason-Pfizerova opičího viru (M-PMV) z rodu *Betaretrovirus* byly připraveny dva expresní vektory pro její produkci v bakteriálních i hmyzích buňkách. Enzym byl produkován, purifikován a jeho aktivita byla měřena metodou kvantitativního PCR. Z výsledných dat je patrné, že reverzní transkriptasa produkována v hmyzích buňkách je mnohem aktivnější než ta, která byla produkována v buňkách bakteriálních. Toto zjištění je důležité nejen pro produkci funkční reverzní transkriptasy viru M-PMV, ale také pro případnou charakterizaci tohoto enzymu. Díky dostatečnému množství enzymu bude možno připravit protilátku, která nám umožní interakční studie s případnými vazebnými partnery. Výsledky poté mohou významně přispět k hlubšímu poznání endogenních retrovirů, řadící se také do rodu *Betaretrovirus* které jsou v posledních letech intenzivně diskutovány v souvislosti s dalšími nemocemi, které jejich aktivace doprovází.

Kvantitativní stanovení řasového biofilmu

Bc. Eleonora Šperlová (M2)

Školitel: prof. Ing. Tomáš Brányik, Ph.D.

Pro studium materiálů z hlediska toho, zda jsou vhodné jako nosiče pro biofilm nebo naopak odolné vůči adhezi mikroorganismů je určujícím parametrem množství získané biomasy. V rámci studií řasových biofilmů se metody kvantifikace liší, avšak obecně se dají rozdělit na mikroskopické, spektrofotometrické, gravimetrické a kultivační metody. Předmětem práce bylo nalezení spolehlivé a opakovatelné kvantifikační metody pro biofilm tvořený mikrořasou *Chlorella vulgaris*. Zvolenou a testovanou metodou bylo stanovení KTJ (kolonie tvořící jednotky). Pro kultivaci biofilmu byl jako nosič vybrán membránový nylonový filtr. Odstranění buněk z nosiče bylo provedeno dvěma způsoby. Zvolená metoda stanovení vedla k neefektivnímu a nepřesnému stanovení biomasy, a to z důvodu silného porůstání nosiče buňkami i po odstranění biofilmu. Jako alternativní metoda byla zvolena obrazová analýza s využitím fluorescenčního mikroskopu. Snímky biofilmu byly převedeny na binární obraz a byl určen procentuální nárůst biofilmu vztážen na plochu nosiče. Ve vybraném časovém intervalu kultivace biofilmu vykazovaly výsledky pro několik nosičů vždy shodu a metoda tak poskytla spolehlivou kvantifikaci. Tato metoda bude využita při studiu vlivu kultivačních podmínek na růst biofilmu v prstencovém biofilmovém reaktoru.

Biotechnologie II

MÍSTO: HISTORICKÁ KNIHOVNA

KOMISE

prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc (předseda)

prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová

Ing. Barbora Branská, Ph.D.

PROGRAM

09:00 zahájení

[Bc. Lenka Aichingerová](#) (M2, prof. Ing. Alena Čejková, CSc.)

Antimikrobiální aktivita nanočástic stříbra připravených pomocí rostlinných extraktů

[Bc. Daniela Basařová](#) (M2, prof. Dr. Ing. Petra Patáková)

Charakterizace probiotické bakterie Clostridium butyricum

[Bc. Kateřina Bašusová](#) (M2, Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.)

Antiproliferační účinky fluorescenčních a fototoxických konjugátů taxolu s BODIPY

[Bc. Markéta Gabrielová](#) (M1, doc. Ing. Irena Jarošová, Ph.D.)

Aditivní účinky antibiotik a přírodních látek na buňky rodu Candida

[Bc. Jana Havlíková](#) (M2, doc. Ing. Irena Jarošová, Ph.D.)

Studium metabolomu a mikrobiomu na myším APP modelu Alzheimerovy choroby

[Bc. Eliška Mašková](#) (M1, prof. Ing. Jan Masák, CSc.)

Delece genů kódující regulační ABCF proteiny ve Staphylococcus aureus

[Bc. Petr Otáhal](#) (M2, Ing. Lukáš Jelínek, Ph.D.)

Nové české odrůdy chmele a jejich využití v pivovarství

[Bc. Lucie Peřtová](#) (M2, Aristeidis Tsagkaris, M.Sc., Ph.D)

Optické biosenzory pro studium polymerních nosičů pro transport léčiv

[Bc. Oleksandr Tohobitskyi](#) (M2, doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.)

Biodegradace a recyklace polyuretanových materiálů

[Bc. Šimon Šuda](#) (M2, PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.)

Stanovenie aloínu v prípravkoch obsahujúcich Aloe vera

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - BIOTECHNOLOGIE II

arxada

biotech
innovative



avantor™

fisher scientific
part of Thermo Fisher Scientific

MERCK

 **SHIMADZU**
Excellence in Science

Antimikrobiální aktivita nanočástic stříbra připravených pomocí rostlinných extraktů

Bc. Lenka Aichingerová (M2)

Školitel: prof. Ing. Alena Čejková, CSc.

V současnosti dochází k velikému rozmachu využívání nanočástic a jiných nanostruktur díky jejich unikátním fyzikálně-chemickým vlastnostem. Z nanočástic jsou to převážně nanočástice stříbra (AgNPs), které se díky svým antimikrobiálním vlastnostem, ukázaly jako velice slibný materiál pro různé aplikace v medicíně, jako součást antimikrobiálních látek, lékových nosičů a diagnostických preparátů. Tato práce se zaměřuje na antimikrobiální aktivitu nanočástic proti suspenzním buňkám grampozitivní bakterie *Enterococcus faecalis* (ATCC 51229), gramnegativní bakterie *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 13883) a kvasinky *Candida parapsilosis* (ATCC 22019). Pro experimenty byly zvoleny dva vzorky biosynteticky připravených nanočástic stříbra. Monodisperzní nanočástice s velikostí v rozmezí 5-20 nm a polydisperzní nanočástice s širším rozmezím velikostí 10-40 nm. Testování antimikrobiální aktivity nanočástic stříbra o určitých koncentracích bylo prováděno v mikrokultivačním zařízení Bioscreen C. Nanočástice se ukázaly jako velmi účinné vůči gramnegativní *K. pneumoniae* a kvasince *C. parapsilosis*, zatímco výraznějšího snížení růstu *E. faecalis* nebylo dosaženo použitím ani jedné z testovaných disperzí AgNPs.

Charakterizace probiotické bakterie *Clostridium butyricum*

Bc. Daniela Basařová (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Petra Patáková

Bakterie *Clostridium butyricum* je významným představitelem rodu *Clostridium*. Pro bakterie tohoto rodu je typický růst v anaerobním prostředí a schopnost vytvářet velmi odolné spory. Do většího povědomí se bakterie dostala díky schopnosti produkovat organické kyseliny, jako jsou kyseliny mléčná a máselná, které hrají významnou roli při zamezení růstu patogenních mikroorganismů v mikrobiotě savců. Proto je *Clostridium butyricum* využívána jako probiotikum, a to jak v léčivé formě (jakožto humánní probiotický doplněk stravy) nebo jako přísada do krmiv hospodářských zvířat. O bakterii, která je považována za modelový organismus rodu *Clostridium*, ale existuje překvapivě málo informací. Cílem práce je proto charakterizace této bakterie. Práce se zaměřuje např. na studium její schopnosti produkovat kyselinu máselnou a mléčnou během svého růstu nebo na spotřebu růstových substrátů z média. Toto je studováno jak při individuálních kultivacích, tak při kultivaci v bioreaktoru. Dále je zkoumán vliv různých růstových podmínek, jako je vliv pH nebo přítomnost železa, a schopnost bakterie za těchto podmínek sporulovat.

Antiproliferační účinky fluorescenčních a fototoxických konjugátů taxolu s BODIPY

Bc. Kateřina Bašusová (M2)

Školitel: Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

Taxol je mitotický jed, který efektivně inhibuje proliferaci nádorových buněk. Působí však i na buňky nenádorové a jeho použití tak vede k řadě nežádoucích účinků. Proto jsou vyvíjeny deriváty taxolu zvyšující jeho selektivitu k nádorovým buňkám a kombinovaná léčiva pro využití v teranostice a multimodální terapii. V této práci byly studovány čtyři konjugáty taxolu, ke kterému byl v pozici C-7 nebo C-2' připojen 4,4-difluoro-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacen (BODIPY) a jeho jodovaný derivát. Byla stanovena jejich cytotoxicita v prsních nádorových (MCF-7, UFH-001) a nenádorových (HMEpiC) buňkách, fototoxicita v buňkách MCF-7 a UFH-001 a schopnost stabilizace mikrotubulů v buňkách MCF-7 transientně produkujících tubulin ve fúzi s fluorescenčním proteinem. Bylo zjištěno, že po 72 h působí všechny konjugáty oproti taxolu na nádorové buňky méně toxicky. Toxičtěji působily na nádorové buňky konjugáty s BODIPY na C-2' taxolu. Nejnižší cytotoxicitu vykazovaly konjugáty v buňkách HMEpiC. Koncentračně závislá fototoxicita byla pozorována pro oba konjugáty taxolu s jodo-BODIPY. Konjugáty s vazbou BODIPY na C-2' taxolu (1 mM) stabilizovaly mikrotubuly po 10 a 15 min., taxol (1 mM) po 5 min., ostatní konjugáty měly nižší účinek. Výsledky ukazují dobré vlastnosti látek, budou tedy dále studovány.

Aditivní účinky antibiotik a přírodních látek na buňky rodu Candida

Bc. Markéta Gabrielová (M1)

Školitel: doc. Ing. Irena Jarošová, Ph.D.

Rod *Candida* je oportunní lidský patogen, který může způsobit vážná onemocnění. Na patogenitě mikroorganismů se podílí virulentní faktory, mezi které řadíme mimo jiné tvorbu biofilmu a produkci enzymů (např. fosfolipázy, proteázy). K léčbě infekcí způsobených rodem *Candida* se často využívají látky klotrimazol a flukonazol. V poslední době však pozorujeme trend zvyšující se rezistence především vůči flukonazolu. Cílem této práce je najít alternativní cestu léčby, která kombinuje účinek dostupných antibiotik s přírodními látkami (Bioswellix, vinný extrakt). Vliv kombinace látek byl testován na buňky biofilmu čtyř kmenů *Candida* (*C. tropicalis* DBM 2166, *C. parapsilosis* CCM 8260, *C. parapsilosis* DBM 2165, *C. krusei* CCM 8271). Největší inhibiční efekt měla kombinace flukonazolu s Bioswellixem na kmen *C. tropicalis* DBM 2166, kdy při kombinaci 5 mg/l Bioswellix + 25 mg/l flukonazol došlo k omezení tvorby biofilmu o 73,4 % oproti kontrole. Z řady virulentních faktorů byl otestován vliv na proteázovou, fosfolipázovou a hemolytickou aktivitu a hydrofobicitu buněčného povrchu buněk biofilmu. Kombinace 20 mg/l Bioswellix + 25 mg/l klotrimazol účinně snížila fosfolipázovou aktivitu u kmene *C. krusei* CCM 8271.

Studium metabolomu a mikrobiomu na myším APP modelu Alzheimerovy choroby

Bc. Jana Havlíková (M2)

Školitel: doc. Ing. Irena Jarošová, Ph.D.

Metabolom je přímou odpovědí biologického systému na genetické, enviromentální či biologické změny. Kromě toho je ovlivněn i střevní mikrobiotou, která se podílí na správné metabolické a imunitní funkci, jelikož produkcí metabolitů komunikuje s centrální nervovou soustavou skrze obousměrnou osu mikrobiom-střevo-mozek. Přestože neexistuje definice zdravého složení střevní mikrobioty, narušení rovnováhy podáním antibiotik, obezitou či stresem může přispívat k neurodegenerativním onemocněním jako je Alzheimerova choroba. Cílem této práce je studium metabolomických změn a mikrobiální diverzity vyvolaných vysokotukovou dietou a léčbou (liraglutid a lipidovaný analog peptidu uvolňující prolaktin) ve fekálních vzorcích myšího modelu s patologií amyloidu β simulující ranou fázi Alzheimerovy choroby. Mikrobiální složení bylo stanoveno pomocí Illumina Mi-seq technologie, a metabolom byl analyzován necílenou metabolomikou na kapalinové chromatografii s hmotnostní spektrometrií. Vlivem vysokotukové diety byly identifikovány významně změněné metabolity ($p < 0,05$) ze skupin aminokyselin, dipeptidů, nukleotidů a nukleosidů, zároveň došlo ke změně zvýšení poměru mikrobiálních kmenů *Firmicutes/Bacteroidetes*, který bývá spjat s obezitou. Vliv léčby se projevil pouze na úrovni fekálního mikrobiomu.

*Delece genů kódující regulační ABCF proteiny ve *Staphylococcus aureus**

Bc. Eliška Mašková (M1)

Školitel: prof. Ing. Jan Masák, CSc.

Podskupina ABCF proteinů náleží do rodiny ATP-vazebných proteinů (zkráceně ABC proteiny). Jedná se o jednu z nejstarších a nerozšířenějších rodin proteinů. Její zástupci jsou známí hlavně pro své transportní funkce. ABCF proteiny ale tuto transportní funkci postrádají a v buňkách plní funkce jako je například regulace syntézy proteinů nebo udělují rezistenci vůči antibiotikům. Práce se zabývá hlavně regulačními ABCF proteiny asociovanými s ribozomy v prokaryotických buňkách. U těchto ABCF proteinů není jasná jejich přesná funkce, která je ale spjatá s fungováním na ribozomech. Známým faktem je, že jsou tyto proteiny indukovány v buňkách hlavně při vystavení stresovým podmínkám. Cílem této práce bylo vytvořit deleční mutanty kmene *Staphylococcus aureus* USA 300 LAC postrádající geny *uup*, *ybiT* a *ydiF*. Následně testovat růst těchto mutantů při stresových podmínkách. Výsledky těchto dat, by mohly sloužit k pochopení funkce některých ABCF proteinů.

Nové české odrůdy chmele a jejich využití v pivovarství

Bc. Petr Otáhal (M2)

Školitel: Ing. Lukáš Jelínek, Ph.D.

Český chmel je celosvětově známý zejména díky tradičním českým odrůdám jako Žatecký poloraný červeňák. V posledních letech však vzrůstá poptávka také po nových chmelových odrůdách se specifickými vlastnostmi, ať už botanickými či chemotaxonomickými. Mezi tyto odrůdy se řadí Saaz Brilliant, Saaz Comfort a Saaz Shine, které jsou svými kvalitativními vlastnostmi a obsahem pivovarsky hodnotných látek velmi blízké Žateckému poloranému červeňáku, mají však znatelně vyšší výnosnost a obsah α -kyselin. Dále jsou to vysokoobsažné odrůdy Boomerang a Gaia, které mezi českými odrůdami nejvyššího obsahu α -kyselin. Svým vysokým obsahem silic a jejich složením mohou navíc najít uplatnění také jako chmely vhodné pro jejich aromatický charakter. Dosahují také poměrně vysokého obsahu prenylovaných flavonoidů a mohou být využity pro výrobu piv s cíleně zvýšeným obsahem těchto látek.

Optické biosenzory pro studium polymerních nosičů pro transport léčiv

Bc. Lucie Peštová (M2)

Školitel: Aristeidis Tsagkaris, M.Sc., Ph.D

Cílem této práce je detekce uvolňování léčiva dexametazon z polymerního nosiče pomocí SPR biosenzoru. SPR biosenzory jsou biosenzory s povrchovou plazmonovou rezonancí. Povrchový plazmon lze definovat jako speciální elektromagnetickou vlnu, která se po vybuzení (bílým světlem) šíří po kovovém (nejčastěji zlatém) povrchu nebo je k němu vázána. Léčivo dexametazon bylo na kopolymerní pHMPA nosič ukotveno pomocí pH senzitivního linkeru OPB (ester 4-(2-oxopropyl benzoové kyseliny)), který má zajistit jeho uvolnění až v postižené (zánětlivé, nádorové) tkáni na základě poklesu pH z fyziologické hodnoty 7,4 na 5-6. Uvolňování tak bylo sledováno v pufru při pH 7,4 a 5. Byly také provedeny optimalizační kroky pro zjištění optimálního množství léčiva navázaného na polymer (5 % a 10 %). Z důvodu získání větší odezvy senzoru byl pro měření vybrán polymer s navázaným léčivem o koncentraci 10 hmotnostních %.

Biodegradace a recyklace polyuretanových materiálů

Bc. Oleksandr Tohobitskyi (M2)

Školitel: doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.

Polyuretan je v současné době jeden z nejpoužívanějších syntetických polymerů na světě. Výzkum biodegradace různých typů polyuretanů přispívá přes zpětnou vazbu k vývoji nových typů materiálů, a následně také moderních způsobů degradace nebo recyklace polyuretanového odpadu, který aktuálně zatěžuje životní prostředí. V experimentální části byly otestovány mikroorganismy, které byly izolovány z půdy při kompostování (biodegradaci) polyuretanu (dvě bakterie a dvě plísně). U těchto izolátů byla otestována schopnost degradovat experimentální polyuretanovou pěnu na bázi alifatických polyesterů, která zde figurovala jako jediný zdroj uhlíku a energie. Experimenty byly provedeny s využitím systému OxiTop®, který zaznamenává spotřebu kyslíku v průběhu kultivace. Účinnost degradace byla sledována pomocí HPLC analýzou produktů degradace. API ZYM® kity byly využity k základnímu screeningu enzymového profilu studovaných izolátů. Následně byla použita fluorescenční metoda pro podrobnější studii aktivit vybraných enzymů (esterázy a proteázy), které jsou schopné degradovat vazby přítomné v použitém polyuretanu. Z výsledků plyne, že plísňové izoláty jsou vhodnější jak pro biodegradaci materiálu, tak pro produkci enzymů použitelných pro recyklaci výchozích surovin polyuretanových materiálů.

Stanovenie aloínu v prípravkoch obsahujúcich Aloe vera

Bc. Šimon Šuda (M2)

Školiteľ: PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.

Aloe vera (L.) Burm.f. je populárna rastlina, ktorá je známa už od staroveku. Využitie aloe našlo najmä v tradičnej medicíne a kozmetike. V modernej dobe sa používalo hlavne pri kožných poraneniach, alebo ako laxatívum. List tejto rastliny je rozdelený na tri časti – kôru, latex a gél. V doplnkoch stravy sa používa gél, pre jeho blahodarné účinky, na rozdiel od latexu, ktorý sa pri spracovaní aloe odstraňuje. Obsahovo najvýznamnejšiu skupinu látok latexu tvoria antrachinóny. Z nich sú najviac zastúpené antrachinónové glykosidy nazývané aloín A a jeho isoforma aloín B. Práve kvôli aloínom sa aloe dostalo pozornosti, pretože v roku 2002 americká FDA informovala o potencionálnej hrozbe rakovinotvorného pôsobenia aloínov. Z tohto dôvodu sa pre obsah aloínov v potravinách a doplnkoch výživy stanovil prísny limit (100 ng/ml), aby konzumácia produktov s extraktom z aloe nepredstavovala pre spotrebiteľa žiadnu hrozbu. Predmetom tejto práce bolo stanoviť obsah aloínov v tekutých doplnkoch stravy. Najskôr bola vybraná najvhodnejšia metóda extrakcie, a to za pomoci ethylacetátu, NaCl a ethanolu. Pre analýzu bol použitý UHPLC systém s detekciou hmotnostným spektrometrom. Zo získaných dát bolo kvantifikované množstvo aloínov v komerčných prípravkoch a zistené či spĺňajú daný limit.

Biotechnologie III

MÍSTO: A111, KNIHOVNA ÚSTAVU BIOTECHNOLOGIE

KOMISE

prof. Ing. Alena Čejková, CSc (předseda)

doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.

Ing. Alžběta Dostálková, Ph.D.

PROGRAM

09:00 zahájení

[Bc. Daniela Doubková](#) (M1, Ing. Barbora Branská, Ph.D.)

Vliv epigenetických modulátorů na produkci sekundárních metabolitů houby Monascus purpureus

[Bc. Sabina Farková](#) (M2, prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc.)

Vliv magnetického pole na kvasinky

[Bc. Karel Fous](#) (M2, prof. Ing. Jan Masák, CSc.)

Antifoulingové vlastnosti polymerních nátěrů na bázi ligninu

[Bc. Anna Fraňková](#) (M2, Ing. Barbora Branská, Ph.D.)

Vliv zdroje uhlíku na produkci sekundárních metabolitů u Monascus purpureus a Monascus pilosus

[Bc. Klára Kušková](#) (M2, prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová)

Charakterizace alosterických míst RNA-dependentní RNA polymerasy SARS-CoV-2

[Bc. Václav Lochman](#) (M2, Ing. Lukáš Jelínek, Ph.D.)

Kvalitativní parametry sladín surogovaných extrudovanými obilovinami

[Bc. Dominika Marková](#) (B1, prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.)

Testování polymerních nosičů pro inhibici interakcí mikroorganismů

[Bc. Kristina Pourová](#) (M2, doc. Ing. Irena Jarošová, Ph.D.)

Možnosti eradikace mikromycetního biofilmu nízkoteplotním plazmatem

[Bc. Vojtěch Vlk](#) (M2, prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc.)

Vliv technologie HGB na senzorické vlastnosti piva

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - BIOTECHNOLOGIE III

arxada

biotech
innovative



avantor™

fisher scientific
part of Thermo Fisher Scientific

MERCK

 **SHIMADZU**
Excellence in Science

*Vliv epigenetických modulátorů na produkci sekundárních metabolitů houby *Monascus purpureus**

Bc. Daniela Doubková (M1)

Školitel: Ing. Barbora Branská, Ph.D.

Monascus purpureus je houba s významným biotechnologickým využitím. Produkuje širokou škálu biologicky aktivních sekundárních metabolitů. Mezi nejvýznamnější látky řadíme barevné pigmenty využívané již po staletí v potravinářství v asijských zemích, hypolipidemikum lovastatin a nefrotoxický citrinin. Produkci těchto látek lze ovlivnit složením média a volbou kultivačních podmínek. V našem výzkumu jsme sledovali vliv přídavku epigenetických modulátorů, které mohou ovlivňovat expresi genů odpovědných za syntézu různých metabolitů. Konkrétně jsme jako modulátory zvolili butyrát sodný a nikotinamid, které byly přidávány do médií pro submersní kultivaci *Monascus purpureus* DBM 4360. Z dosavadních experimentů vyplývá, že zatímco nikotinamid významně produkci pigmentů ani citrininu neovlivnil. Přídavek butyrátu sodného inhiboval produkci všech pigmentů a snížil produkci citrininu, což je opačný efekt, než jaký jsme očekávali.

Vliv magnetického pole na kvasinky

Bc. Sabina Farková (M2)

Školitel: prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc.

Tento projekt se zabýval studiem vlivu statického magnetického pole na růst kvasinky *Saccharomyces cerevisiae*. Cílem práce bylo zjistit účinek na proliferaci buněk, počet buněk a celkové ovlivnění růstové křivky. Sledována byla optická denzita, počet buněk a celkový stav kultury. Bylo shledáno, že za určitých podmínek nižší vitality a viability kvasničných buněk má homogenní statické magnetické pole pozitivní vliv na růst kvasinek v exponenciální fázi růstové křivky. Dle počítání buněk obarvených methylenovou modří v Búrkerově komůrce bylo zjištěno, že vystavení kvasničné kultury magnetické indukci o velikosti 140 mT nijak nepůsobí na úmrtnost kvasinek. U vysoce vitálních a viabilních buněk *Saccharomyces cerevisiae* růst při aplikaci statického magnetického pole neprokazoval žádné rozdíly oproti neexponovaným vzorkům. Závěrem lze říci, že pro získání jednoznačných výsledků pro potenciální využití v průmyslových aplikacích by bylo třeba dále opakovat experimenty a udržovat absolutní opakovatelnost použitých podmínek.

Antifoulingové vlastnosti polymerních nátěrů na bázi ligninu

Bc. Karel Fous (M2)

Školitel: prof. Ing. Jan Masák, CSc.

Mikroorganismy jsou schopny kolonizovat téměř jakýkoliv povrch od různých typů půd přes minerály až po živé organismy. Výjimkou nejsou ani trupy lodí, které mohou být po vzniku biofilmu dále kolonizovány mnohobuněčnými organismy. Tento nežádoucí jev se označuje jako biofouling. I tenká vrstva biofilmu uchyceného na trupu lodi může loď zpomalovat či napomáhat vzniku koroze, což přináší vyšší ekonomické náklady. Je snaha předcházet vzniku biofilmu úpravou povrchu vedoucí k omezení buněčné adheze. Na partnerské Universitě v Luleå jsou vyvíjeny nové materiály s předpokládanými antimikrobiálními a antifoulingovými vlastnostmi. Jedná se o polymerní nátěry rozpustné v acetonu, jejichž aktivní složkou jsou frakce ligninu izolované z bukového a smrkového dřeva. Cílem této práce bylo stanovit vliv nátěrů s různým obsahem ligninu na adhezi mikroorganismů, konkrétně dvou mořských bakterií *Pseudoalteromonas atlantica* a *Marinobacter nauticus*. Antiadhezivní účinek nátěrů byl rovněž testován proti bakterii *Pseudomonas aeruginosa*, která je považována za modelový mikroorganismus tvorby bakteriálního biofilmu. Většina nátěrů na bázi ligninu vykazovala lepší výsledky v porovnání s komerčně dostupnými nátěry. Rovněž byla zjištěna závislost adheze mikroorganismu na koncentraci ligninu.

*Vliv zdroje uhlíku na produkci sekundárních metabolitů u *Monascus purpureus* a *Monascus pilosus**

Bc. Anna Fraňková (M2)

Školitel: Ing. Barbora Branská, Ph.D.

Tato práce se zabývá vlivem zdroje uhlíku na tvorbu primárních a sekundárních metabolitů hub *Monascus purpureus* DBM 4360 a *Monascus* sp. DBM 4361. Oba kmeny byly kultivovány v kapalném médiu s různými zdroji uhlíku. Po ukončení kultivací byla stanovena koncentrace vybraných metabolitů v kultivačním médiu a extraktu z biomasy. Jako majoritní produkt primárního metabolismu byla u obou kmenů nalezena kyselina jablečná. Spektrum sekundárních metabolitů bylo odlišné pro jednotlivé kmeny, přičemž *Monascus* sp. DBM 4361 tvořil celkově méně pigmentů a netvořil citrinin, nejvyšší koncentrace pigmentů v médiu a biomase byla dosažena pro glycerol. *Monascus purpureus* DBM 4360 tvoří jak pigmenty, tak mykotoxin citrinin, nejméně bylo citrininu na médiu s celobiosou a galaktosou, tomu odpovídala minimální produkce pigmentů. Naopak nejvíce pigmentů bylo při kultivaci na fruktose, kde bylo získáno i nejvíce citrininu, a to jak v médiu, tak v extraktu.

Charakterizace alosterických míst RNA-dependentní RNA polymerasy SARS-CoV-2

Bc. Klára Kušková (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová

Virus SARS-CoV-2 se poprvé objevil v prosinci roku 2019 v čínském Wuchanu a během několika měsíců se rozšířil do celého světa a způsobil světovou pandemii. Cílem většiny již používaných antivirotik je aktivní místo enzymu RNA-dependentní RNA polymerázy (RdRp). RdRp je tvořena nestrukturními proteiny nsp7 a nsp8, působících jako kofaktory, a vlastní polymerázou nsp12, která je zodpovědná za replikaci virové RNA. Používaná antivirotika mají ovšem mnoho nežádoucích účinků a často selhávají kvůli efektivnímu opravnému mechanismu SARS-CoV-2. Slibným cílem pro léčbu jsou alosterická místa RdRp. V této práci byly připraveny dva nestrukturní proteiny nsp12 s aminokyselinovou substitucí. První protein obsahoval dvojitou substituci (D208L, K73L), která se nachází v predikovaném alosterickém místě. Druhý protein obsahoval substituci odpovídající mutaci P323L, která se běžně vyskytuje ve variantách Delta a Omikron SARS-CoV-2. Proteiny byly produkovány v hmyzích buňkách, a poté purifikovány pomocí afinitní chromatografie. Aktivita enzymu byla měřena pomocí metody založené na vazbě barviva SYBR Green ke dvouřetězcové RNA. Pomocí této metody byl také analyzován vliv remdesiviru na aktivitu RdRp komplexu. Bylo zjištěno, že analyzovaná záměna aminokyselin má značný vliv na polymerázovou aktivitu.

Kvalitativní parametry sladin surogovaných extrudovanými obilovinami

Bc. Václav Lochman (M2)

Školitel: Ing. Lukáš Jelínek, Ph.D.

Tato práce byla zaměřena na produkci extrudovaných surogátů a studiu jejich vlivu na produkci a kvalitu sladin. Pro tento účel jsme připravili cereální extrudy z běžně používaných surogátů (rýže, kukuřice a čirok). V těchto extrudovaných i neupravených moukách jsme poté stanovili míru zmazovatění škrobu pomocí RVA analýzy. Poté jsme uvařili kongresní sladiny z neupravené mouky a extrud ve třech mírách surogace (10, 25 a 50 hm %) a čistě sladovou várku, která sloužila jako kontrolní vzorek. Během přípravy sladin jsme stanovovali vývoj extraktu (refraktometricky), dobu potřebnou pro přefiltrování sladin a intenzitu její barvy (spektrofotometricky). Výsledky RVA analýzy nám prokázaly, že extruze opravdu podporuje zmazovatění škrobu v našich cereálních moukách. Extrakt ve sladinách připravovaných s přidáním extrudovaných surogátů byl srovnatelný s kontrolní várkou i při nejvyšších dávkách surogace, oproti sladinám s obsahem neupravené mouky v sypání, kde byl extrakt o poznání nižší. Podobného výsledku jsme docílili i v případě intenzity barvy, kdy vhodně zvoleným teplotním programem v průběhu extruze lze kompenzovat ztrátu barevných látek jako tomu bylo u neupravených mouk. Použitím extrudovaných surogátů se ovšem značně prodloužila doba potřebná pro přefiltrování sladin.

Testování polymerních nosičů pro inhibici interakcí mikroorganismů

Bc. Dominika Marková (B1)

Školitel: prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

Hydrofilní polymery na bázi 2-(hydroxypropyl) metakrylamidu se v posledních letech těší intenzivnímu zájmu v oborech medicíně a nanomedicíny. Jejich vlastnosti je předurčují jak k tomu, aby byly výbornými nosiči terapeutických látek malé molekulární hmotnosti, tak materiálem vhodným pro povrchovou modifikaci vektorů v genovém inženýrství. Tato práce se soustředí na další možnost jejich využití, již je snížení motility a infekivity infekčních agens skrze vazbu na jejich povrch a následné sterické bránění. Možná inhibice bakteriální motility byla zkoumána a potvrzena zkumavkovým testem na *P. mirabilis*. Biokompatibilita polymeru byla potvrzena testem MIC u bakterií, resp. testem cytotoxicity u tkáňových buněk. Za účelem zkoumání vlivu na vazbu virové částice na buňku jsou zaváděny systémy *E. coli* - kolifágy, hmyzí buňky SF9 - baculovirus a MPMV – tkáňové buňky HEK 239, resp. COS-1.

Možnosti eradikace mikromycetního biofilmu nízкотеплотním plazmatem

Bc. Kristina Pourová (M2)

Školitel: doc. Ing. Irena Jarošová, Ph.D.

Nízкотеплотní plazma (NTP) je částečně ionizovaný plyn, který se skládá z chemicky aktivních částic, reaktivních forem kyslíku a dusíku, UV fotonů, elektronů a iontů. NTP je mnoho let široce používáno v různých aplikacích (odstraňování plynných polutantů, součást plynových výbojek, povrchové úpravy). V poslední době byly prokázány pozitivní účinky NTP v biomedicínských aplikacích od efektivní dekontaminace patogenních mikrobů, zlepšení hojení ran až po potenciální protinádorový efekt. Oproti bakteriálním a kvasinkovým biofilmům je studium biofilmů mikromycet a možnosti jejich eliminace opomíjené. Cílem této práce bylo studium vlivu NTP na spory, 24 a 48 hodinový biofilm mikromycet *Aspergillus niger*, *Alternaria alternata*, *Fusarium culmorum* a *Fusarium graminearum*. Všechny vzorky byly ozářeny výbojem NTP o napětí 6 kV po dobu 1,5 hodiny a porovnány s kontrolní sadou vzorků. Výsledky ukázaly, že NTP je vysoce účinné na spory všech pozorovaných mikromycet (téměř 100% potlačení následného vzniku biofilmu), u narostlých biofilmů došlo u většiny vzorků k poklesu jejich metabolické aktivity. Také byl proveden shodný experiment využívající UV záření pro eliminaci spor, jakožto referenční metoda pro sterilaci povrchů, a bylo zjištěno, že tato metoda je ve srovnání s NTP zcela neefektivní.

Vliv technologie HGB na senzorické vlastnosti piva

Bc. Vojtěch Vlk (M2)

Školitel: prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc.

Technologie HGB (z angl. high gravity brewing) představuje výrobu piva z mladiny o vyšší stupňovitosti, které je během filtrace procesem řízeného ředění deaerovanou vodou upraveno na jeho požadovanou výslednou stupňovitost. V pivovarech se HGB běžně využívá nejen z ekonomických, ale také kvalitativních důvodů. Analytické vyhodnocení vzorků pív, připravených z mladiny o stupňovitosti 11 °P, 15 °P a 20 °P, nepotvrdilo prokazatelný vliv HGB na obsah esterů a vyšších alkoholů, což je v rozporu s dosud provedenými studiemi. Změna koncentrace diacetylu a dimethylsulfidu opakovaně nebyla prokázána. Sensorické parametry 11 °P piva byly posuzovány pomocí metod sensorické analýzy - trojúhelníkového testu a deskriptivní analýzy u běžných konzumentů. Trojúhelníkový test provedený mezi vzorky konvenčními a HGB ani v jednom případě neprokázal významný rozdíl. Deskriptivní analýza se věnovala popisu jednotlivých sensorických parametrů. Hodnocení plnosti bylo dle očekávání vyšší u konvenčně připravených pív. Posouzení výsledného dojmu nicméně ukázalo, že HGB nemusí způsobovat významné odchylky v sensorickém profilu, a že současná aplikace technologie HGB bude pravděpodobně nacházet svůj význam i v budoucnu.

Biotechnologie IV

MÍSTO: A111, PRACOVNA VEDOUCÍHO ÚSTAVU BIOTECHNOLOGIE

KOMISE

prof. Ing. Karel Melzoch, CSc (předseda)

doc. Ing. Olga Maťátková, Ph.D.

Ing. Lukáš Jelínek, Ph.D.

PROGRAM

09:00 zahájení

[Bc. Karina Amineva](#) (M2, prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová)

Characterization of intracellular localization of DHX15 helicase.

[Bc. Thi Nga Dao](#) (M2, prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová)

Deriváty bevirimatu a jejich vliv na infektivitu a maturaci HIV-1

[BSc. Anton Girda](#) (M2, prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc.)

Biogenic Amines in Beer. Formation, Detection and Quantification. Implications in Beer Production.

[Petra Karásková](#) (M2, prof. Ing. Tomáš Brányik, Ph.D.)

Srovnání tradičního chmelovaru s procesem využívajícím kavitaci

[Bc. Martin Klingel](#) (M2, prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc.)

Chmel a chmelové látky jako antimikrobiální konzervant

[Bc. Kamila Koppová](#) (M2, prof. Dr. Ing. Petra Patáková)

Produkce a biologická aktivita červených ve vodě rozpustných pigmentů produkovaných houbou Monascus

[Bc. Vanda Lupjanová](#) (M2, doc. Ing. Irena Jarošová, Ph.D.)

Studium buněčné komunikace cell-to-cell bakterie Pseudomonas aeruginosa

[Bc. Kamila Sokolíková](#) (M2, prof. Ing. Jan Masák, CSc.)

*Nalezení vhodných nanostruktur proti virulenčním faktorům *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus**

[Bc. Radka Vydrová](#) (M2, doc. Ing. Irena Jarošová, Ph.D.)

*Vliv *Pseudomonas aeruginosa* na růst *Aspergillus fumigatus* prostřednictvím sekvestrace volného železa*

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - BIOTECHNOLOGIE IV

arxada

biotech
innovative



avantor™

fisher scientific
part of Thermo Fisher Scientific

MERCK

 **SHIMADZU**
Excellence in Science

Characterization of intracellular localization of DHX15 helicase.

Bc. Karina Amineva (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová

In a growing number of *in vitro* studies, RNA helicases have been found to be involved in immune responses to viruses by acting as viral RNA sensors or immune signaling adapters. The cellular RNA helicase DHX15 has an essential role in the retroviral lifecycle, however the exact mechanism of its cellular localization and function have yet to be determined. The present work aims to determine the localization of the DHX15 helicase in Mason-Pfizer monkey virus (M-PMV) infected cells, which would help us to predict its function during virus replication. By transfection of COS-1 and HEK293 cells with the vector encoding the entire M-PMV genome, we confirmed that DHX15 is incorporated in the M-PMV virions produced in both human and monkey cells. Initially, the localization of DHX15 in M-PMV infected and non-infected cells was determined by confocal microscopy. To further support our finding that DHX15 is present in both nuclear and cytosolic compartments, immunochemical analysis was used. Following the separation of nuclear and cytosolic fractions, the presence of DHX15 proteins was confirmed in both fractions of M-PMV infected and non-infected HEK 293 cells.

Deriváty bevirimatu a jejich vliv na infektivitu a maturaci HIV-1

Bc. Thi Nga Dao (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová

Inhibitory maturace HIV-1 nebolí zrání virové částice zabraňují virové proteáze štěpit polyprotein Gag mezi kapsidovou a SP1 doménou. Tím zabraňují vzniku virového jádra tzv. core. Výsledkem je neinfekční virová částice, neschopná infikovat další buňky. Klinická studie nejvýznamnějšího inhibitoru maturace – bevirimatu byla zastavena kvůli často se vyskytujícímu polymorfismu SP1 domény polyproteinu Gag. Tento polymorfismus snižoval citlivost viru k léčivu. V této práci byl pomocí lentivirového systému testován vliv nových inhibitorů maturace, odvozených od bevirimatu na infektivitu HIV-1 divokého typu. Dále byl testován vliv bevirimatu na infektivitu tří bevirimat-rezistentních mutantů CA-SP1 domény, které se přirozeně vytváří při vystavení pacientů vlivu bevirimatu. Byly selektovány dva nejúčinnější inhibitory, u kterých bude dále testován jejich vliv na infektivitu těchto tří mutantů. V další části práce se budeme věnovat objasnění mechanismu účinku těchto dvou inhibitorů maturace.

Biogenic Amines in Beer. Formation, Detection and Quantification. Implications in Beer Production.

BSc. Anton Girda (M2)

Školitel: prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc.

Biogenic Amines in Beer. Detection and Quantification. Implications in Beer Production. The presentation will cover a part of the diploma work that I am ongoingly working on. Introduction to the topic will explain how biogenic amines are formed in beer. Implications for health of consumers will also be included in the introduction. Hence, the first part of the explanation for why this topic is relevant. The connection between biogenic amines and contamination during the production process will also be explained in the introduction. The following part will briefly cover the methodology of detection and quantification (HPLC-DAD) including some specific preparations which are required for detection (treatment with dansyl-chloride). Following the methodology, the concluding part of the presentation will present some preliminary results, which are currently available “on-hand”, and draw the connection to the ongoing work, its goals and theoretical background. The connection to the field of biotechnology will also be drawn as a conclusion to explain the purpose of the study. Throughout the presentation various references to already existing findings and studies will be made to connect the ongoing experiment with “real-life data”.

Srovnání tradičního chmelovaru s procesem využívajícím kavitaci

Petra Karásková (M2)

Školitel: prof. Ing. Tomáš Brányik, Ph.D.

Cílem práce je provedení experimentů ověřujících předpokládané účinky hydrodynamické kavitace na průběh izomerace α -hořkých kyselin a porovnání tohoto procesu s tradičním chmelovarem. Experimentální mladina je připravována při teplotách nižších než 100 °C na klasické 1 hl varně s přidaným kavitačním okruhem obsahujícím čerpadlo a Venturiho trubici. Z dosavadních výsledků je zřejmé, že hydrodynamická kavitace zintenzivňuje izomeraci α -hořkých kyselin a k izomeraci dochází v dostatečné míře při teplotách pod 100 °C. Během experimentů při teplotě 90 °C s využitím kavitace bylo dosaženo srovnatelných účinností izomerace jako za podmínek klasického chmelovaru. Předmětem dalších experimentů bude porovnání procesu využívajícího kavitaci s klasickým chmelovarem na základě vybraných parametrů (odpar, barva, lom, TBA, obsah DMS, silic).

Chmel a chmelové látky jako antimikrobiální konzervant

Bc. Martin Klingel (M2)

Školitel: prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc.

Chmelová rostlina disponuje mnoha zdraví prospěšnými látkami. Některé z nich, ale zejména ty, řadící se mezi chmelové pryskyřice, skýtají značný potenciál pro možné uplatnění jako eliminační faktor mikrobiální kontaminace v potravinách. Jako nejvhodnější pro potenciální výzkum se jeví α - a β -kyseliny. Jejich strukturu je možné po chemické stránce popsat jako deriváty fluoroglucinolu. Alfa- i β -kyseliny mají prokázány antimikrobiální účinek zejména proti G+ bakteriím a v menší míře proti G- bakteriím. Takové působení pryskyřic se může projevovat v podobě bránění aktivního transportu či inhibicí dýchacího řetězce bakterií. Cílem této práce bylo ověřit výsledky prezentované v odborné literatuře, tedy působení kyselin na G+ bakterie a pokusit se o získání pozitivních výsledků u působení těchto pryskyřic na G- bakterie. Dalším vytyčeným bodem v této práci bylo srovnání baktericidních účinků α - a β -kyselin s průmyslově používaným konzervantem E202 (sorban draselný). Aktuálně se analyzuje reprodukovatelnost získaných výsledků a provádí se aplikace na širším vzorku bakterií, ať už G+, tak i G-. V případě získání pozitivních a jednoduše opakovatelných výsledků je v úvahu i možná následná aplikace těchto kyselin v průmyslu jako alternativní možnost pro konzervaci a delší úchovu potravin.

*Produkce a biologická aktivita červených ve vodě rozpustných pigmentů produkovaných houbou *Monascus**

Bc. Kamila Koppová (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Petra Patáková

Houba *Monascus* je významným producentem oligoketidových pigmentů, které mají především v asijských zemích hojně využití jako potravinářská barviva. Kromě pigmentů se může tvořit i mykotoxin citrinin či monakolin K. Všechny tyto sekundární metabolity jsou v poslední době zkoumány jako možné inhibitory enzymů zodpovědných za rozvoj diabetu nebo hyperlipidémie. První část práce je věnována submerzní kultivaci houby *Monascus purpureus* a *Monascus sp.* v médiích lišících se zdrojem dusíku a hodnotou pH. Nejběžnějším zdrojem dusíku pro kultivaci této houby je kvasničný extrakt, nicméně růst a produkce sekundárních metabolitů byla pozorována také při kultivaci na glutamátu sodném či dusičnanu sodném. Nižší koncentrace pigmentů byla dle zabarvení pozorovatelná i při růstu na chloridu amonném. Stanovení extracelulárních a intracelulárních sekundárních metabolitů v médiu po kultivaci a v extraktech z mycelia bylo provedeno pomocí UHPLC. Druhá část práce je zaměřena na testování biologických aktivit sekundárních metabolitů, především červených pigmentů. Právě tyto pigmenty jsou rozpustné ve vodě a jejich vodné roztoky je možné použít pro testy enzymové inhibice. Ostatní produkované pigmenty jsou rozpustné pouze v ethanolu či DMSO, tato rozpouštědla však interferují s enzymatickými testy.

*Studium buněčné komunikace cell-to-cell bakterie *Pseudomonas aeruginosa**

Bc. Vanda Lupjanová (M2)

Školitel: doc. Ing. Irena Jarošová, Ph.D.

Bakterie *Pseudomonas aeruginosa* je oportunním patogenem způsobujícím infekce u imunosuprimovaných pacientů a fatální komplikace u pacientů s cystickou fibrózou. Až 80 % jím vyvolaných onemocnění je zapříčiněno tvorbou biofilmu, komunikaci buněk při jeho formaci zajišťují tzv. quorum sensing molekuly (QS). Cílem tohoto projektu je detekovat produkci QS molekul *P. aeruginosa* v průběhu jednotlivých fází růstu (planktonická kultura vs biofilm), oddělit kolonizaci substrátu od vyvolání infekce a zjistit, zda jsou specifické QS molekuly vhodné biomarkery infekce pro potenciální diagnostické využití. Experimenty byly zaměřeny na zachycení rozdílů v profilu vylučovaných QS molekul při optimálních podmínkách růstu planktonické kultury a biofilmu, a dále při působení stresových faktorů v podobě různého výchozího pH, vyšší koncentrace NaCl a při ko-kultivaci s houbovou kulturou *Aspergillus fumigatus*. Vzorky odebrané z kultivací byly analyzovány na kapalinové chromatografii s hmotnostním spektrometrem (LC-MS). Byla provedena optimalizace procesu detekce QS molekul na LC-MS, včetně extrakce vzorků, LC metody a MS parametrů. Detekovány byly zatím některé skupiny QS molekul a byl zaznamenán vývoj jejich produkce v průběhu kultivace. Biofilm byl vizualizován pomocí elektronové mikroskopie (SEM).

*Nalezení vhodných nanostruktur proti virulenčním faktorům *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus**

Bc. Kamila Sokolíková (M2)

Školitel: prof. Ing. Jan Masák, CSc.

Nanostruktury jsou novodobým řešením stále se rozšiřující rezistence bakterií vůči antibiotikům. Cílem práce bylo navrhnout a modifikovat podmínky syntézy lignin-stříbro nanočástic. Nejprve byly nanočástice připravovány v prostředí mikrotitrační destičky. Vzniklé nanočástice byly poté za účelem nalezení maximálních hodnot absorpce charakterizovány pomocí UV-Vis spektrometrie. Následně byly na základě výsledků zvoleny 2 vstupní koncentrace ligninu, které byly využity k reakci ve 40x větším objemu. Takto vzniklé nanočástice byly izolovány a charakterizovány kromě UV-Vis spektrometrie také dynamickým rozptylem světla, atomovou absorpční spektrometrií a transmisním elektronovým mikroskopem. Na základě výsledků byly zvoleny 2 podmínky experimentu, za kterých byly nanočástice syntetizovány v 10x větším objemu. Vzniklé nanočástice byly opět izolovány a charakterizovány výše popsányi metodami. Na základě výsledků těchto analýz nebyly pozorovány významné změny v průběhu syntézy ve větším objemu. Jádro a povrch nanočástic budou dále charakterizovány za pomoci rentgenové difrakční analýzy a infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací. U lignin-stříbro nanočástic bude následně studována jejich antimikrobiální aktivita, a to konkrétně proti *P. aeruginosa* a *S. aureus*.

*Vliv *Pseudomonas aeruginosa* na růst *Aspergillus fumigatus* prostřednictvím sekvestrace volného železa*

Bc. Radka Vydrová (M2)

Školitel: doc. Ing. Irena Jarošová, Ph.D.

Pseudomonas aeruginosa i *Aspergillus fumigatus* představují oportunně patogenní organismy, které mohou způsobovat vážné komplikace u imunokompromitovaných pacientů, zejména těch s cystickou fibrózou. Mechanismus vzájemného působení těchto mikroorganismů souvisí i s jejich kompeticí o železo (esenciální prvek pro metabolismus buňky), což vede ke zvýhodnění jednoho mikroorganismu nad druhým prostřednictvím produkce sideroforů (chelatorů železa). Cílem tohoto projektu je pochopení morfologických a funkčních změn na úrovni sekundárního metabolismu těchto patogenů ve směsných kulturách *in vitro*, což je nezbytně nutné pro popis interakcí uvnitř hostitele. Vzájemný vliv mikroorganismů bude monitorován s využitím mikrobiologických technik, elektronové mikroskopie (SEM) a především analýzy pomocí kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem (LC/MS), která poskytne profil produkováných sekundárních metabolitů, sideroforů, které se jako faktory virulence podílejí na patogenitě mikroorganismu. Výsledkem je studium vlivu *P. aeruginosa* na růst dvou kmenů *A. fumigatus*, zahrnující klinický izolát a sbírkový kmen.

Ústav biochemie a mikrobiologie (320)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

doc. Ing. Mgr. Štěpánka Kučková, Ph.D.

Ing. Michaela Marková, Ph.D.

SEZNAM SEKČÍ

1. [Biochemie nukleových kyselin a sacharidů](#)
2. [Biomedicínské aplikace I](#)
3. [Biomedicínské aplikace II](#)
4. [Enzymologie a proteomika](#)
5. [Charakterizace biologických materiálů](#)
6. [Imunochemie a imunologie](#)
7. [Mikrobiologie](#)
8. [Virologie](#)

SPONZOŘI



Biochemie nukleových kyselin a sacharidů

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D. (předseda)

doc. Dr. Ing. Zuzana Novotná

Ing. Ludmila Karamonová, Ph.D.

PROGRAM

zahájení

[Bc. Valeriia Belova](#) (M2, Ing. Tereza Leonhardt, Ph.D.)

Izolace "arsenomu" pomocí amplifikace genu arsM

[Anna Chaloupecká](#) (M2, Ing. Jan Sácký, Ph.D.)

Izolace a charakterizace genů vyšších hub zodpovědných za akumulaci kadmia

[Bc. Jana Chuchlová](#) (M2, Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.)

Štika obecná - analýza DNA pomocí qPCR

[Bc. Valérie Pistorová](#) (M2, Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.)

Využití mitochondriálních genů pro identifikaci zástupců z čeledi Salmonidae

[Bc. Marie Prenerová](#) (M2, doc. Ing. Jan Lipov, Ph.D.)

Chitooligosacharidy - příprava a analytické stanovení

[Bc. Eliška Radová](#) (M2, Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.)

Herbicidní ignorant – Roundup Ready sója a její detekce a kvantifikace pomocí qPCR

[Bc. Barbora Voleníková](#) (M2, prof. Ing. Martin Fusek, CSc.)

Studium interakcí Np_nN-RNA s proteiny

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - BIOCHEMIE NUKLEOVÝCH KYSELIN A SACHARIDŮ



SHIMADZU

Excellence in Science

*Izolace "arsenomu" pomocí amplifikace genu *arsM**

Bc. Valeriia Belova (M2)

Školitel: Ing. Tereza Leonhardt, Ph.D.

Arsen (As) je toxický prvek, jehož akumulace v plodnicích jedlých hub, většinou ve formě methylesterů arsenitých a arseničných kyselin, představuje možné zdravotní riziko pro konzumenty. Přestože methylované formy As jsou v houbách nalézány relativně často, jejich původ není jednoznačně vysvětlen. Jeden z možných zdrojů je absorpce těchto sloučenin houbou z půdy, kde se nachází bakteriální společenství, vytvářející methylované formy tohoto polokovu. Schopnost methylace As u půdních bakterií lze ověřit pomocí zjištění přítomnosti genu *arsM*, součásti tzv. «arsenomu», kódujícího arsenit-methyltransferasu. Pro tuto analýzu je potřeba univerzální funkční sada primerů, jejíž nalezení a testování je hlavním cílem této práce. Primery nalezené v literatuře pro izolaci *arsM*, které byly také zařazeny do testování, podle dalších studií podceňují diverzitu tohoto genu, proto bylo rozhodnuto navrhnout vlastní sadu. Návrh primerů byl proveden dvěma způsoby: ručně, s rozdělením známých proteinových sekvencí *arsM* do fylogenetických klastrů, a pomocí softwaru HYDEN. Primery jsou testovány *in silico* a *in vitro* na genomové DNA *arsM* pozitivních bakterií. Amplikony budou sekvenovány pro upřesnění jejich identity. Sady primerů budou testovány také na reálných půdních vzorcích.

Izolace a charakterizace genů vyšších hub zodpovědných za akumulaci kadmia

Anna Chaloupecká (M2)

Školitel: Ing. Jan Sáčký, Ph.D.

Bylo pozorováno, že vyšší houby mohou ve svých plodnicích akumulovat pozoruhodně vysoké koncentrace kadmia. Mezi tyto významné akumulátory se řadí houby *Amanita muscaria*, *Agaricus crocodillinus* a *Cystoderma carcharias*. Cílem této práce bylo izolovat a charakterizovat geny těchto hub odpovědné za akumulaci kadmia. Pro identifikaci genů byla u každé z hub vybrána jiná metodika. Konkrétně šlo o *in silico* analýzy genomu houby *A. muscaria*, konstrukci expresní knihovny u houby *A. crocodillinus* a *in vitro* knockout abundančních genů z již připravené expresní knihovny houby *C. carcharias* pomocí systému CRISPR/Cas9. Pomocí prvních dvou metod se podařilo identifikovat celkem tři různé geny kódující metalothioneiny: gen *AmMT1* z houby *A. muscaria* a geny *AcMT1* a *AcMT2* z houby *A. crocodillinus*. Všechny identifikované geny byly následně charakterizovány v mutantních kmenech kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*. Získané sekvence metalothioneinů byly dále porovnány s dostupnými sekvencemi houbových metalothioneinů ze třídy *Agaricomycetes* a zařazeny do klasifikačních skupin. Třetí metodou byly z cDNA knihovny *C. carcharias* odstraněny abundanční plasmidy nesoucí geny *CcMT1* a *CcMT2*, tento krok by mohl přispět k objevení nových genů odpovědných za akumulaci kadmia.

Štika obecná - analýza DNA pomocí qPCR

Bc. Jana Chuchlová (M2)

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Štika obecná (*Esox lucius*) je považována za předního predátora okupujícího sladkovodní a poloslaná území. Je to masožravá ryba, která dává přednost samotářskému stylu života. Významná je z hospodářského hlediska a také například ve sportovním rybolovu. Se stále se zvyšující poptávkou mezinárodního trhu s rybami roste na důležitosti schopnost identifikace původu již zpracovaných rybích výrobků a obsahu jednotlivých druhů rybího masa ve zmíněných výrobcích. Cílem práce je ověřit možnosti izolace DNA štiky ze svaloviny různými metodami (CTAB, DNeasy® *mericon* Food Kit a *croBEE*® 201A Nucleic Acid Extraction Kit) a najít způsob, ze kterého by byl co největší výtěžek DNA. Koncentrace DNA byla měřena spektrofotometricky nebo fluorimetricky. Následně byla DNA testována pomocí qPCR s primery amplifikujícími parvalbuminový gen. Další práce bude zahrnovat přípravu vícedruhových směsí svalovin ryb, izolaci jejich DNA a provedení analýzy pomocí qPCR. Také se budou ověřovat experimentální podmínky LAMP protokolu, který by byl vhodný pro identifikaci štiky obecné v reálném čase. Výzkum je zaměřen na specifické rozpoznání masa štiky obecné v různých vzorcích ryb a jeho odlišení od jiných druhů rybího masa. Tato práce byla finančně podpořena z grantu MZe (NAZV) QK1910231.

Využití mitochondriálních genů pro identifikaci zástupců z čeledi Salmonidae

Bc. Valérie Pistorová (M2)

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

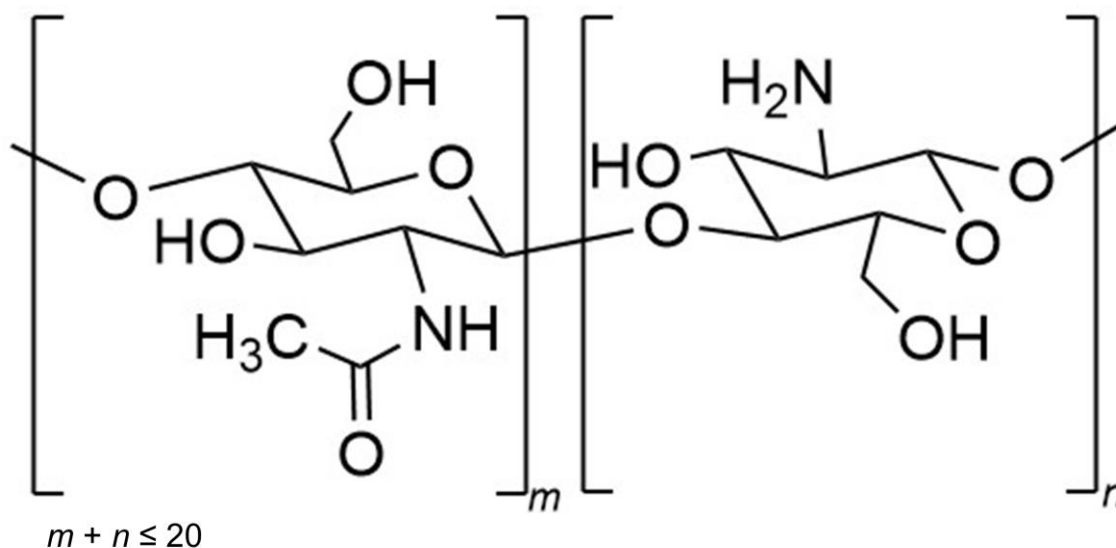
Salmo salar, běžně známý jako losos atlantský, patří k jedné z nejoblíbenějších živočišných komodit, zejména pro svou jedinečnou chuť a nutriční vlastnosti. Nicméně kvůli vysoké poptávce na trhu se *Salmo salar* stává častým předmětem falšování a bývá nahrazován levnějším a také dostupnějším *Oncorhynchus mykiss* neboli pstruhem duhovým. K této záměně dochází kvůli morfologické podobnosti těchto dvou druhů, pro spotřebitele je tedy takřka nemožné je rozlišit, hlavně ve výrobcích. Problémem však není pouze klamání spotřebitele. Komplikací je i zdravotní nebezpečnost těchto falšovaných potravin, kdy jedno z možných rizik představuje vysoká alergenita parvalbuminu. Proto je zcela nezbytné vytvořit vhodnou a specifickou metodu k druhové identifikaci ryb. Tato práce je zaměřena na návrh a experimentální ověření protokolu pro DNA barcoding a DNA mini-barcoding vybraných druhů ryb. Jak pro DNA barcoding, tak i pro DNA mini-barcoding byl jako oblast identifikace použit mitochondriální gen podjednotky I cytochrom c oxidasy (COI). Dalším dílem experimentální části byla izolace DNA pomocí metody CTAB a následné ověření kvality a kvantity takto izolované DNA za použití spektrofotometru, fluorimetru, qPCR a Sangerova sekvenování. Práce byla finančně podpořena z grantu MZe (NAZV) QK1910231.

Chitooligosacharidy - příprava a analytické stanovení

Bc. Marie Prenerová (M2)

Školitel: doc. Ing. Jan Lipov, Ph.D.

Chitooligosacharidy (COS) jsou homo či heterooligomery složené z jednotek D-glukosaminu a/nebo *N*-acetyl-D-glukosaminu a pro své mnohé prospěšné účinky (např. snižování hladiny cholesterolu) se spolu s chitosanem stávají oblíbeným doplňkem stravy. COS se vyrábějí enzymatickou, fyzikální nebo chemickou depolymerizací chitinu či chitosanu, po které nejčastěji následuje chromatografická či membránová separace produktů z reakční směsi. V současnosti je nejobtížnějším krokem získání COS o definované čistotě, stupni polymerace a acetylace. Pro získání analytických standardů je tedy důležité zavést jednoduché, laboratorně dostupné a pokud možno levné metody hydrolýzy, separace, detekce a následné charakterizace COS. Jako nejvhodnější se jeví spojení chemické hydrolýzy následované iontově výměnnou chromatografií. Přítomnost COS ve frakcích lze poté detekovat kolorimetricky, spojené frakce analyzovat pomocí HPLC s MS a/nebo ELS detekcí, a tak získat dobře charakterizované COS. Pomocí těchto standardů lze optimalizovat metodu HPLC s UV a ELS detekcí a použít ji jako nástroj rutinní analýzy COS. Po přípravě analytických standardů a po optimalizaci HPLC metody bude naším cílem stanovit COS v chitosanových doplncích stravy, tzn. zjistit, zda nedochází ke klamavému označení těchto doplňků.



Herbicidní ignorant – Roundup Ready sója a její detekce a kvantifikace pomocí qPCR

Bc. Eliška Radová (M2)

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

V Evropské Unii se jako krmivo pro hospodářská zvířata nejvíce používá sója. Sója a další plodiny byly geneticky modifikovány s cílem získat co nejlepší agronomické vlastnosti. Především se jedná o odolnost proti hmyzu a odolnost k herbicidům. Podle evropského nařízení musí být nové potraviny vyrobené z geneticky modifikovaných organismů (GMO) označeny. Kontrola takto označených potravin je založena na detekci dílčích sekvencí DNA pocházející z GMO. Nejpoužívanějším přístupem pro detekci a kvantifikaci GMO je kvantitativní PCR s fluorescenční detekcí v reálném čase (qPCR). Cílem mé práce je provést kvantitativní stanovení Roundup Ready sóji (RRS) pomocí metody qPCR, následně pak provést odhad nejistoty výsledku a totéž zopakovat i pro GM kukuřici. Pro kvantifikaci RRS metodou qPCR byla vytvořena kalibrační řada připravená čtyřkovým a dvojkovým ředěním referenčního materiálu s obsahem 5 % GMO. Referenční materiál s obsahem 1 % GMO byl izolován ve dvou paralelách a následně použit jako vzorek. Ze získaných výsledků měření se poté vypočítala relativní standardní nejistota (RSD) a z procentuálního zastoupení RRS ve vzorku rozšířená nejistota (U).

Studium interakcí Np_n -RNA s proteiny

Bc. Barbora Voleníková (M2)

Školitel: prof. Ing. Martin Fusek, CSc.

Chemická povaha 5'konce RNA je klíčovou determinantou stability RNA, jejího zpracování, lokalizace a v případě mRNA i účinnosti její translace. Dlouho se předpokládalo, že pouze eukaryota chrání svou RNA čepičkou, tzv. m⁷G. Později se ukázalo, že i prokaryota využívají určitý druh ochrany své RNA například ve formě 5' trifosfátu (ppp-RNA) nebo nikotinamiddinukleotidu kovalentně připojeného k 5' konci. Nedávno byla objevena zcela nová třída RNA čepiček v bakteriích – dinukleosid polyfosfáty (Np_n), avšak sekvence RNA, které jsou takto čepičkovány i jejich role v buňkách je zatím neznámá. Cílem této práce je vyvinout metodu pro studium interakcí Np_n -RNA s proteiny. K tomu jsem využila bio-layer interferometrii – metodu využívající analýzu interferenčního obrazce bílého světla, které se odráží od vrstvy biomolekul imobilizovaných na povrchu hrotu biosenzoru. Změna v interferenčním obrazci je vyvolána jakoukoli změnou v počtu molekul spojených s hrotem biosenzoru. Připravila jsem modelové čepičkované RNA a použila bio-layer interferometrii ke studiu jejich interakcí s proteiny. Prozatím jsem zjistila ideální podmínky měření a kvantifikovala interakci proteinu HINT1 s ppp-RNA a Ap₄A-RNA a porovnála síly interakce.

Biomedicínské aplikace I

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

doc. Ing. Hana Stiborová, Ph.D. (předseda)

doc. Ing. Igor Hochel, CSc.

Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.

PROGRAM

zahájení

[Bc. Jana Dudová](#) (M1, Ing. Petr Svoboda, Ph.D.)

Účinky chlorovaných parafínů na buněčnou linii adipocytů

[Barbora Janebová](#) (B2, Ing. Eva Jablonská, Ph.D.)

In vitro testování biomateriálů na bázi zinku s povrchovou úpravou

[Bc. Dominika Kališová](#) (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Studium účinků fyzioterapie na buněčné úrovni

[Bc. Tereza Košťálová](#) (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Srovnání biologických účinků fotoproduktů bilirubinu vznikajících při fototerapii novorozenecké žloutenky

[Bc. Emílie Kučerová](#) (M2, Ing. Petr Svoboda, Ph.D.)

Antimikrobiální účinek peptidů navázaných na biokompatibilní polymerní nosič

[Bc. Eliška Malíková](#) (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Studium účinků asparaginasy v podmínkách nádorového mikroprostředí

[Bc. Zdeněk Míchal](#) (M1, Ing. Eva Jablonská, Ph.D.)

In vitro testování flavonolignanů - interakce s estrogenovým a androgenovým receptorem

[Bc. Petra Piliarová](#) (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Porovnání účinků environmentálních polutantů na zánětlivou odpověď

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - BIOMEDICÍNSKÉ APLIKACE I



Účinky chlorovaných parafínů na buněčnou linii adipocytů

Bc. Jana Dudová (M1)

Školitel: Ing. Petr Svoboda, Ph.D.

Chlorované parafíny (CP) jsou organické polutanty lipofilní povahy. V průmyslu jsou hojně využívány středně dlouhé (MCCP) a dlouhé formy CP, i přesto že je dlouhodobě diskutováno jejich negativní působení na lidský organismus a životní prostředí. Vzhledem k nedostatku dat ohledně působení CP na organismus, bylo naším cílem sledovat jejich účinky na buněčnou linii adipocytů 3T3-L1. Při experimentech byly během adipogeneze a ke zralým adipocytům 3T3-L1 do média přidávány středně dlouhé chlorované parafíny. Ve vzorcích buněk a médií jsme stanovili obsah triacylglycerolů (TAG), byly využity dvě různé techniky; barvení pomocí Oil red O s následnou spektrofotometrickou detekcí a stanovení pomocí komerčního enzymatického kitu. Sledována byla také akumulace MCCP ve zralých adipocytech metodou plynové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (GC-NCI-HRMS). Získaná data ukazují, že MCCP se akumulují ve zralých adipocytech 3T3-L1, přičemž se vzrůstají koncentrací a dobou ovlivnění narůstá intracelulární obsah MCCP. Současně jsme zjistili, že přítomnost MCCP v kultivačním médiu nemá vliv na množství TAG, které se v buňkách během adipogeneze vytvoří. Naše výsledky ukazují, že CP mají značnou schopnost akumulovat se uvnitř tukové tkáně, bez vlivu na adipogenezi.

In vitro testování biomateriálů na bázi zinku s povrchovou úpravou

Barbora Janebová (B2)

Školitel: Ing. Eva Jablonská, Ph.D.

Tradiční biomateriály používané v ortopedii mají výborné mechanické vlastnosti. U dočasných aplikací (např. fixace zlomenin) však pacient musí podstoupit další operaci pro jejich odstranění. Proto se objevila snaha vyvinout materiály schopné biodegradace, pro lékařské účely byly navrženy slitiny hořčíku, železa a zinku. Cílem této práce bylo *in vitro* testování slitiny na bázi zinku s řízeně připravenými povlaky ZnP. Byl proveden test *in vitro* cytotoxicity dle normy ISO 10993-5 na extraktech s vyhodnocením metabolické aktivity pomocí resazurinu. Jako buněčné modely byly použity myší fibroblasty (buněčná linie L929) a buněčná linie hFOB 1.19 odvozená od lidské kostní tkáně. Toxicita extraktů byla značně variabilní, většina koncentrovaných působila na buňky toxicky, což může souviset s nadměrným uvolňováním zinku, jehož množství bylo stanovováno pomocí metody ICP-MS. V několika případech materiály s povrchovou úpravou ale vykazovaly lepší vlastnosti v porovnání s těmi bez ní. Dále byl proveden kontaktní test na buněčné linii hFOB 1.19, kdy byla hodnocena kolonizace materiálu a morfologie buněk pomocí fluorescenční mikroskopie. Pro testování antibakteriálního působení byly použity kmeny *Escherichia coli* a *Staphylococcus epidermidis*, přičemž antibakteriální účinek nebyl prokázán.

Studium účinků fyzioterapie na buněčné úrovni

Bc. Dominika Kališová (M2)

Školitel: doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.

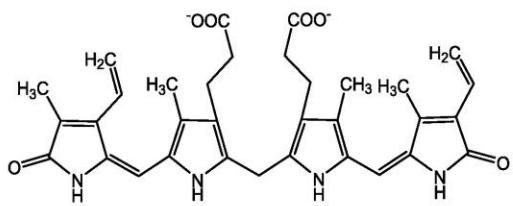
Fyzioterapie je lidstvu známá již od pravěku a v poslední době její význam v medicíně raketově vzrostl. Na základě empirických poznatků je aplikována v léčbě degenerativních a zánětlivých poruch, konkrétní mechanismy jejích účinků jsou však nedostatečně prozkoumány. Tato práce se věnuje vlivům fyzioterapie na buněčné úrovni, zavádí metodiku studia účinků na buněčných kulturách a dává si za cíl pochopit jejich vliv na organismus. Metodika vycházela z informací o praktické aplikaci termoterapie a magnetoterapie na pohybový aparát člověka. Základní hypotézou je, že působení fyzikálních podnětů způsobí v buňkách mírný oxidační stres a nastartuje protizánětlivou odpověď, čímž se urychlí proces regenerace tkáně. Jako model byly použity buňky RAW264.7. Metody zahrnovaly analýzu hladin reaktivních kyslíkových sloučenin (ROS) pomocí spektrofotometrie, kvantifikaci cytokinu TNF- α metodou ELISA, stanovení aktivity NO synthasy Griessovým činidlem a kontrolu viability buněk pomocí resazurinu. Z dosavadních měření vyplynulo, že termoterapie i magnetoterapie mají zásadní vliv na hladiny ROS a tlumí zánětlivou odpověď buněk RAW264.7. Podařilo se tedy zavést *in vitro* model použitelný pro studium různých metod fyzioterapie.

Srovnání biologických účinků fotoproduktů bilirubinu vznikajících při fototerapii novorozenecké žloutenky

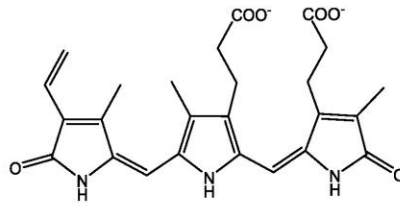
Bc. Tereza Košťálová (M2)

Školitel: doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.

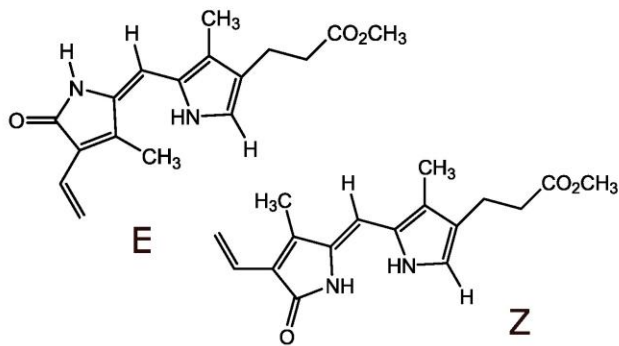
Novorozenecká žloutenka (NZ) je v prvním týdnu života novorozence způsobena zejména zvýšenou degradací erytrocytů. Většinou je NZ neškodná, avšak u 7 % případů dochází k závažné, život ohrožující hyperbilirubinémii ($>340 \mu\text{mol/l}$). U těchto pacientů se indukuje fototerapie (FT, $\lambda = 460 \text{ nm}$), při níž vznikají z bilirubinu (BR) polárnější fotoprodukty (FP), které mohou být z těla snáze vyloučeny. Dle řady studií je FT asociována s nežádoucími vedlejšími účinky, mezi něž se řadí např. vyšší riziko rozvoje alergií či rakoviny. Výzkum biologické aktivity FP by měl odhalit mechanismus některých negativních účinků FT. Tato práce se zabývá srovnáním biologických účinků řady FP (monopyrolické Boxy, dále propendyopenty E, Z a biopyrrin A) s bilirubinem (viz Obr.). MTT testem byl změřen vliv FP na viabilitu buněk hepatoblastomu (HepG2). Pomocí LC-MS byla měřena stabilita FP a schopnost jejich prostupu do buněk. Byla měřena míra inhibice vzniku peroxylových radikálů a míra lipoperoxidace v polárním, resp. nepolárním prostředí. Antioxidační účinky se snižovaly v závislosti na klesajícím počtu pyrolů v molekulách FP. Žádný z FP neměl na rozdíl od BR vliv na buněčnou viabilitu. Tyto výsledky poukazují na možné cytoprotektivní účinky FP, ačkoliv prostup do buněk byl potvrzen jen pro BR a Boxy.



Bilirubin

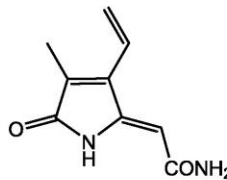


Biopyrrrin

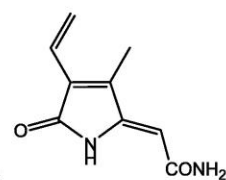


E

Z



Box A



Box B

Antimikrobiální účinek peptidů navázaných na biokompatibilní polymerní nosič

Bc. Emílie Kučerová (M2)

Školitel: Ing. Petr Svoboda, Ph.D.

Vzrůstající míra antibiotické rezistence a zvyšující se počet multirezistentních kmenů bakterií a bakterií s extenzivní rezistencí jsou jedny z hlavních světových zdravotnických problémů. Slibnou alternativou konvenčních antibiotik jsou antimikrobiální peptidy, na něž je pravděpodobnost tvorby rezistence výrazně nižší. Jako nosiče antimikrobiálních peptidů lze použít biokompatibilní polymery. Výhodou tohoto spojení je především stabilizace peptidů, jejich cílení, řízené uvolňování při kontaktu s bakterií a snížení toxicity na zdravou tkáň. Tato práce se zabývá testováním účinku antimikrobiálních peptidů GKWMKLLKKILK a Indolicidinu vázaných přes různé spojky na biokompatibilní polymery na bázi modifikovaného hydroxypropylmethakrylamidu. Největší antimikrobiální účinek byl pozorován při vazbě peptidu GKWMKLLKKILK pomocí pH-senzitivní spojky, v takovém systému byly řádově srovnatelné hodnoty minimální inhibiční koncentrace s hodnotami samotného peptidu. Dále byl prokázán baktericidní účinek peptidu GKWMKLLKKILK testem baktericidity a vizualizací pomocí transmisní elektronové mikroskopie. Prostřednictvím fluorescenční mikroskopie byla zobrazena lokalizace peptidu GKWMKLLKKILK v obalových vrstvách bakterií, přičemž samotný polymerní nosič s bakteriemi neinteragoval.

Studium účinků asparaginasy v podmínkách nádorového mikroprostředí

Bc. Eliška Malíková (M2)

Školitel: doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.

Novotvary jsou heterogenní skupina chorob s pestrým genetickým profilem. Nádorová tkáň se však vyznačuje i specifickým mikroprostředím, čehož může být využito v terapii. Asparaginasa je léčivo využívané k terapii krevních malignit. Mechanismus jejího účinku spočívá v hydrolýze extracelulárního L - asparaginu a v menší míře L - glutaminu na L - aspartát a L - glutamát. Tato práce se zaměřuje na zhodnocení potenciálu asparaginasy cílit na mikroprostředí solidních tumorů, především v kombinaci s novou generací léčiv působících na bázi oxidačního stresu. Na modelu tkáňových linií adenokarcinomu pankreatu PaTu8902 a karcinomu děložního čípku HeLa byl studován vliv glutaminu a asparaginu, a to konkrétně částečná a úplná deplece glutaminu a úplná deplece asparaginu za různých metabolických podmínek simulujících nádorové mikroprostředí. Po čtyřdenní adaptaci buněk byl vyvolán oxidační stres pomocí peroxidu vodíku či chemoterapeutika CPI-613. Následně byla měřena viabilita buněk resazurinovou metodou. Z naměřených dat vyplývá, že úplná deplece glutaminu, nikoliv však asparaginu, významně snižuje odolnost buněk k oxidačnímu stresu. Stejného efektu lze dosáhnout při částečné depleci glutaminu kombinované s úplnou deplecí asparaginu, tedy podmínek dosažitelných působením asparaginasy.

In vitro testování flavonolignanů - interakce s estrogenovým a androgenovým receptorem

Bc. Zdeněk Míchal (M1)

Školitel: Ing. Eva Jablonská, Ph.D.

Ostropestřec mariánský (*Silybum marianum*) je rostlina obsahující látky, které se používají pro prevenci steatózy jater nebo k léčbě při jaterních obtížích. Účinná směs flavonolignanů v této rostlině se nazývá silymarin. Bylo zjištěno, že díky schopnosti vychytávat volné radikály, ovlivňovat vznik enzymů zánětlivých reakcí a inhibici regulátorů mitózy a buněčného cyklu lze silymarin využít pro prevenci fotokarcinogeneze a vývoje kožních nádorů. Nyní jsou proto semisynteticky připravovány deriváty těchto látek, které by mohly být novými chemoprotektivy. U některých z těchto látek byly však zjištěny nežádoucí vedlejší účinky. Jedním z nich je schopnost ovlivňovat genovou expresi prostřednictvím hormonálních jaderných receptorů. Cílem naší práce bylo pomocí *in vitro* reportérových testů na lidských tkáňových kulturách HeLa9903 a MDA-kb2 zjistit schopnost vybraných flavonolignanů vázat se na steroidní hormonální receptory. Z naměřených dat bylo vyhodnoceno, že pouze flavonol quercetin má schopnost agonisty estrogenního receptoru. Žádná z testovaných látek neměla schopnost agonisty androgenního ani glukokortikoidního receptoru. Dále se budeme zabývat testováním antagonistických vlastností těchto látek a také testováním aktivity jejich metabolitů po interakci s jaterním homogenátem.

Porovnání účinků environmentálních polutantů na zánětlivou odpověď

Bc. Petra Piliarová (M2)

Školitel: doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.

Znečistenie životného prostredia je jedným z najzávažnejších problémov negatívne ovplyvňujúcich ľudské zdravie. Charakterizujeme ho ako uvoľňovanie, resp. prítomnosť environmentálnych kontaminantov v životnom prostredí. V tejto práci sme sa zamerali na mikročastice sadzí vo vzduchu, ktorých negatívny vplyv na zdravie je síce presvedčivo dokázaný, ale mechanizmus ich pôsobenia je doteraz predmetom špekulácií. Cieľom tejto práce bolo zaviesť na modeli sadzí spoľahlivú metodiku pre hodnotenie imunotoxicity kontaminantov, ktorá by umožnila študovať zdravotné riziká jednotlivých časticových frakcií a ďalších kontaminantov, ako sú napr. nanoplasty. Sadze odobraté z čističky vzduchu boli resuspendované vo vode a použité v surovom stave alebo po odstránení hrubej frakcie filtráciou. Obe frakcie boli v rôznych objemových pomeroch pridané k myším makrofágom RAW 264.7. Testovali sme ich vplyv na viabilitu buniek, produkciu reaktívnych kyslíkových zlúčenín a zápalovú signalizáciu s/bez imunostimulačného účinku bakteriálneho lipopolysacharidu. Výsledky ukazujú, že nefiltrované ani filtrované častice nemajú vplyv na viabilitu buniek, ale výrazne ovplyvňujú produkciu reaktívnych kyslíkových i dusíkových zlúčenín, ktoré sú charakteristické pre zápalovú signalizáciu.

Biomedicínské aplikace II

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

doc. Ing. Jan Lipov, Ph.D. (předseda)

Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Ing. Tomáš Podzimek, Ph.D.

PROGRAM

zahájení

[Bc. Jitka Chalupová](#) (M2, prof. Ing. Martin Fusek, CSc.)

Infekce Calu-3 buněk virem chřipky typu A a SARS-CoV-2

[Bc. Anežka Dědková DiS.](#) (M2, Ing. Petr Svoboda, Ph.D.)

Úloha nikotinamidfosforibosyltransferasy v ochraně proti oxidačnímu stresu

[Bc. Kseniia Khodakovskaia](#) (M2, Ing. Petr Svoboda, Ph.D.)

Sekrece nikotinamidfosforibosyltransferasy rakovinnými buňkami

[Bc. Tereza Korpasová](#) (M2, Ing. Jana Štikarová, Ph.D.)

Interakce fibrinogenu a trombinu při hemostáze a trombóze

[Vít Lichtenberg](#) (M2, Ing. Štěpán Huber, Ph.D.)

Vybrané možnosti analýzy padělků léčiv s obsahem inhibitorů fosfodiesterázy 5

[Bc. Eliška Podoláková](#) (M2, prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.)

Biomarkery morbidity experimentálního modelu schistosomózy

[Bc. Tomáš Přibyl](#) (M2, doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.)

Hledání vhodné formulace molybdenových klastrů pro fotodynamickou terapii

[Bc. Klára Suneghová](#) (M2, prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.)

LAMA5 - nový gen podmiňující autosomálně dominantní tubulointersticiální onemocnění ledvin (ADTKD)?

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - BIOMEDICÍNSKÉ APLIKACE II



Ferticare
a GeneraLife clinic

Schoeller

INSTRUMENTS

Infekce Calu-3 buněk virem chřipky typu A a SARS-CoV-2

Bc. Jitka Chalupová (M2)

Školitel: prof. Ing. Martin Fusek, CSc.

Cílem projektu je studovat vliv adhezních GPCRs na infekci Calu-3 buněk virem způsobujícími respirační onemocnění, konkrétně virem chřipky typu A a SARS-CoV-2. Za tímto účelem bylo nejprve třeba ověřit, zda jsou Calu-3 buňky těmito virem infikovatelné a najít vhodné podmínky pro infekci. Infekce byla potvrzena pomocí imunofluorescenčního stanovení virových antigenů. Pomocí XTT eseje byl sledován cytopatický efekt, na jehož základě byly vybrány podmínky, které umožňují úspěšnou infekci. Zmíněnými metodami se nám podařilo prokázat, že Calu-3 buňky, odvozené od adenokarcinomu lidských plicních epiteliálních buněk, jsou infikovatelné jak virem chřipky typu A, tak SARS-CoV-2. Dále bylo třeba určit, zda dochází ke změně exprese adhezních GPCRs po infekci studovaných buněk respiračními virem a zda se tedy tyto receptory podílí na infekci. Pro analýzu změn exprese daných proteinů byla izolovaná celková buněčná RNA, která byla analyzována pomocí RTqPCR s primery proti úsekům kódujícím adhezní GPCRs a proti proteinům v jejich signálních drahách. Pomocí RTqPCR byla sledována změna exprese těchto proteinů mezi infikovanými a neinfikovanými buňkami v čase 6 a 24 hodin po infekci.

Úloha nikotinamidfosforibosyltransferasy v ochraně proti oxidačnímu stresu

Bc. Anežka Dědková DiS. (M2)

Školitel: Ing. Petr Svoboda, Ph.D.

Nikotinamidfosforibosyltransferasa (Nampt) je klíčový enzym biosyntetické dráhy NAD vycházející z nikotinamidu. NAD působí jako koenzym v mnoha redoxních reakcích, které se mohou podílet také v ochraně buňky proti oxidačnímu stresu. V situaci, kdy antioxidační ochrana selhává, dochází k hromadění volných radikálů a nastává oxidační stres. Naším cílem je zjistit, zda se Nampt svou enzymatickou aktivitou, tedy produkcí NAD, podílí na ochraně buňky proti oxidačnímu stresu. V rámci studie pracujeme s buněčnou linií preadipocytů 3T3-L1. Jako induktor oxidačního stresu jsme zvolili peroxid vodíku, s nímž byly buňky ovlivněny po dobu 4 a 24 hodin. Nejprve jsme stanovili buněčnou viabilitu, kdy jsme pozorovali pokles v životaschopnosti buněk v závislosti na koncentraci peroxidu vodíku. Jako střední letální dávku peroxidu vodíku (LD_{50}) jsme určili koncentraci $851 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ pro 4-hodinovou inkubaci a $677 \mu\text{mol}\cdot\text{l}^{-1}$ pro 24-hodinovou inkubaci. Dále jsme se zaměřili na určení vhodného množství preadipocytů pro stanovení antioxidační kapacity, kdy jsme jako dostačující počet stanovili $8\cdot 10^5$ buněk.

Sekrece nikotinamidfosforibosyltransferasy rakovinnými buňkami

Bc. Kseniia Khodakovskaia (M2)

Školitel: Ing. Petr Svoboda, Ph.D.

Nikotinamidfosforibosyltransferasa (Nampt) je intracelulární enzym, který se primárně účastní biosyntézy NAD. Bývá rovněž uváděno, že v extracelulárním prostředí působí jako cytokin. V současné době ale není znám přesný sekreční mechanismus a ani nejsou popsány buňky sekretující Nampt. Zvýšené hladiny Nampt však byly nalezeny v krvi pacientů trpících chronickými a zánětlivými onemocněními, jako je obezita nebo rakovina. Proto bývají za buňky sekretující Nampt označovány rakovinné buňky, adipocyty nebo buňky imunitního systému. Naším cílem bylo ověřit aktivní sekreci Nampt na rakovinných liniích i) pankreatu: PaTu a MIA PaCa-2; ii) jater: HepG2; iii) střevní sliznice: CaCo-2 a HT-29; iv) kosti: U-2 OS a v) mozku: SH-SY5Y. Metodou imunoblotu byla posouzena aktivní sekrece Nampt, kdy jsme stanovili množství Nampt a intracelulárního enzymu glyceraldehyd-3-fosfátdehydrogenasy (GAPDH) v kultivačním médiu a buněčném lyzátu. Za aktivní sekreci Nampt byl označen výsledek, kdy bylo zjištěno vyšší množství Nampt/GAPDH v kultivačním médiu, nežli v buněčném lyzátu. Všechny použité rakovinné linie aktivně sekretovaly Nampt, přičemž nejvyšší míru sekrece vykazovaly linie střevní sliznice HT-29 a kosti U-2 OS.

Interakce fibrinogenu a trombinu při hemostáze a trombóze

Bc. Tereza Korpasová (M2)

Školitel: Ing. Jana Štikarová, Ph.D.

Hlavním úkolem hemostázy je zástava krvácení v porušeném krevním řečišti a současně obnova normální cirkulace v poraněné cévě. Při poškození cévní stěny okamžitě nastoupí hemostatické procesy, které postupně vedou k jejímu uzavření. Finálním krokem koagulační kaskády je přeměna fibrinogenu na fibrin působením serinové proteázy trombinu a vytvoření fibrinové sítě. Porucha jakékoliv ze složek hemostázy může vést k závažným krvácivým či trombotickým stavům. Cílem této práce je studium interakce fibrinogenu a trombinu, posouzení morfologie vzniklého fibrinového klotu a vývoj metody pro měření jeho biomechanických vlastností u plasem s deficiencí koagulačních faktorů FVIII, FIX a FXI a u pacientů s poruchou hemostázy. Doposud byla provedena měření polymeračních a fibrinolytických křivek u vzorků 35 pacientů trpících vrozenými poruchami fibrinogenu pomocí turbidimetrické metody. Měření budou v další fázi výzkumu doplněna snímky z elektronového skenovacího mikroskopu a reometrickým měřením biomechanických vlastností koagulace. Jednotlivé studované parametry nám pomohou získat ucelený pohled na kvalitu fibrinového klotu pro dané konkrétní onemocnění a propojit klinický fenotyp pacienta s výsledky měření.

Vybrané možnosti analýzy padělků léčiv s obsahem inhibitorů fosfodiesterázy 5

Vít Lichtenberg (M2)

Školitel: Ing. Štěpán Huber, Ph.D.

Léky na léčbu erektilní dysfunkce patří nepochybně mezi nejvíce padělaná léčiva na světě. Přestože se jedná o rozsáhlý problém, tak se mu nevěnuje dostatečná pozornost. Při analýze falsifikátů je důležité používat metody se specifickými vlastnostmi. Jedná se o nedestructivnost, jednoduchou přípravu vzorku, relativně malé množství vzorku potřebné k analýze, přímočaré vyhodnocení výsledků, rychlost metody a nižší náročnost na obsluhující personál. Tyto podmínky splňuje především rentgenová prášková difrakce (XRPD). Pokud XRPD doplníme o Ramanovu a infračervenou spektroskopii, tak získáme spolehlivé informace o vnitřním složení přípravku. Cílem práce je ověřit použití metody rentgenové práškové difrakce, Ramanovy a infračervené spektroskopie ke kvalitativní analýze padělaných medicínálních přípravků s obsahem inhibitorů fosfodiesterázy 5 a rozšířit tak možnosti forenzní identifikace padělaných léků.

Biomarkery morbidity experimentálního modelu schistosomózy

Bc. Eliška Podoláková (M2)

Školitel: prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.

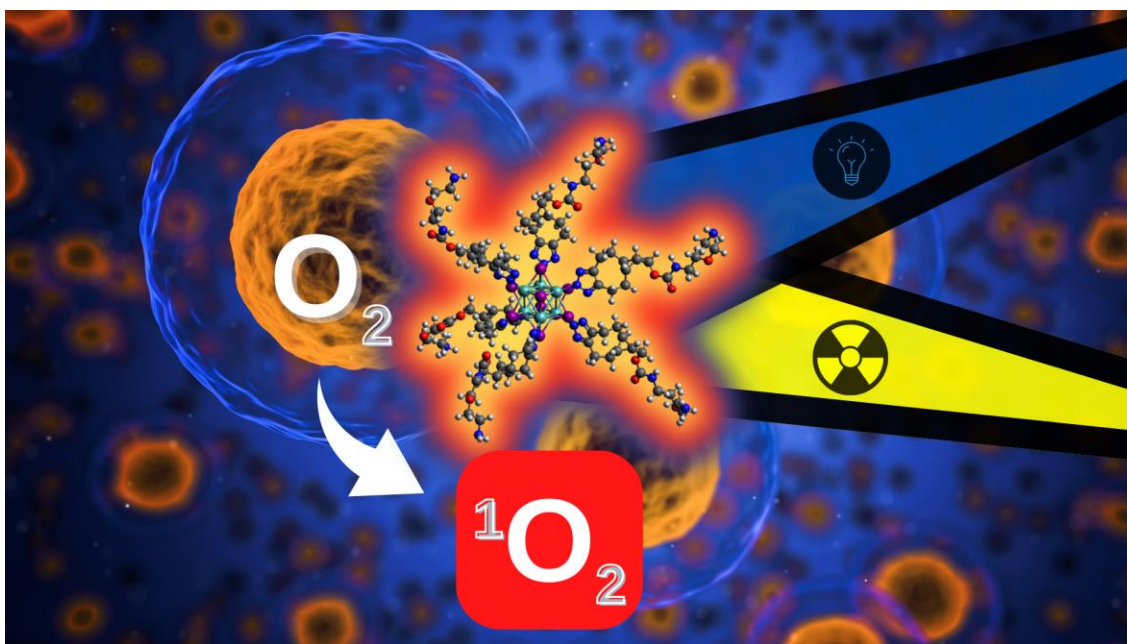
Schistosomóza je onemocnění, které vyvolává motolice rodu *Schistosoma*. Schistosomóza se řadí mezi tzv. zanedbávaná tropická onemocnění, pro která je typické, že navzdory jejich celosvětovému obrovskému počtu nakažených se jim nevěnuje adekvátní pozornost. Pozornosti se schistosomóze nedostává, kvůli jejímu rozšíření v oblastech světa s nízkou životní úrovní. Podle světové zdravotnické organizace se schistosomózou za rok 2019 nakazilo 240 miliónů lidí a dalších přibližně 700 miliónů lidí žijí v endemických oblastech, kde jsou každodenně vystaveni vysokému riziku nákazy. Proti tomuto onemocnění je dosud používáno jediné antischistosomální léčivo zvané praziquantel. Na praziquantel vzniká rezistence, a proto je snaha nalézt léčivo nové. Pro schistosomózu také stále chybí specifické biomarkery, podle nichž by bylo možné přesněji určit v jaké fázi onemocnění se nakažený jedinec nachází. Protože je schistosomóza komplexní onemocnění postihující mnoho orgánů naráz není dostačující pro vyhodnocení úspěšnosti terapie pouze jeden vybraný marker. Cílem této diplomové práce je navrhnout potenciální biomarkery závažnosti probíhající experimentální schistosomózy u myši nakažené *S. mansoni*. Dalším cílem je testování účinku nových inhibitorů proteáz *S. mansoni* jakožto potenciálního léčiva.

Hledání vhodné formulace molybdenových klastrů pro fotodynamickou terapii

Bc. Tomáš Přibyl (M2)

Školitel: doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.

Klastry s jádrem $[\text{Mo}_6\text{I}_8]^{4+}$ produkují singletový kyslík po expozici širokému spektru záření včetně modrého světla a rentgenových paprsků. Jejich biokompatibilita a nízká toxicita slibují využití ve fotodynamické a rentgenem indukované fotodynamické terapii rakovinných buněk. V této práci se zabývám biologickým testováním čtyř formulací klastrů zahrnujících molekulární klast, nanočástice, polymerní částice a lipidem stabilizované nanočástice. Tyto formulace vykazují vysoký fototoxický účinek po ozáření modrým světlem (460 nm) s IC_{50} v rozmezí $0,04 - 16,6 \mu\text{mol.l}^{-1}$ přičemž ve tmě se žádná toxicita neprojevuje. V případě nanočástic pozorujeme i signifikantní synergii s rentgenovým zářením při inhibici proliferace buněk již při dávce 2 Gy. K testování byly využity i 3D buněčné sféroidy, čímž se přibližujeme podmínkám lidského těla, např. gradientu kyslíku směrem k nekrotickému jádru. Po ovlivnění sféroidů částicemi a ozáření pozorujeme zastavení růstu sféroidů a snížení metabolické aktivity. Naše práce ukázala, že různé formulace molybdenových klastrů jsou slibným základem pro vývoj protinádorových terapeutik působících na bázi fotodynamické terapie.



LAMA5 - nový gen podmiňující autosomálně dominantní tubulointersticiální onemocnění ledvin (ADTKD)?

Bc. Klára Suneghová (M2)

Školitel: prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.

Autosomálně dominantní tubulointersticiální nefropatie (ADTKD) je pomalu progredující dědičné onemocnění ledvin vyžadující dialýzu a transplantaci ledvin ve věku 30. – 70. let. V současnosti jsou známy 4 geny podmiňující ADTKD, stále však zůstává asi 35 % případů s neobjasněnou genetickou příčinou. Hlavním patogenetickým mechanismem vedoucím k selhání ledvin u ADTKD pacientů je hromadění mutovaných proteinů v buňkách ledvin. V rámci této práce jsme v rodině s fenotypem ADTKD a vyloučenými mutacemi ve známých kauzálních genech identifikovali heterozygotní variantu v genu *LAMA5* (c.5621G>A, p.D1852N), jež plně segreguje s onemocněním. Na úrovni patientské střevní biopsie jsme detekovali aberantní expresi *LAMA5* ve srovnání s kontrolní tkání. V rámci studia funkčního dopadu varianty D1852N-*LAMA5* jsme pomocí technologie CRISPR-Cas9 vytvořili buněčné linie savčích buněk produkujících mutovaný a WT protein *LAMA5*. Tento buněčný model následně využijeme pro analýzu posttranslačních modifikací (western blot) a lokalizaci *LAMA5* v relevantních buněčných kompartmentech (imunocytochemie, konfokální mikroskopie). Výsledky získané z buněčného modelu a střevní tkáně od pacienta s variantou v *LAMA5* by měly přispět k objasnění molekulárního mechanismu vedoucího k selhání ledvin v dané rodině.

Enzymologie a proteomika

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

doc. Ing. Petra Lovecká, Ph.D. (předseda)

Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.

Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

PROGRAM

zahájení

[Bc. Michal Dvořák](#) (M1, doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.)

Příprava enzymů AAC(6')-APH(2'') a VanA způsobujících rezistenci proti antibiotikům u Staphylococcus aureus

[Bc. Helena Hradiská](#) (M2, prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.)

Zvyšování efektivity molekulárních simulací pomocí strojového učení

[Bc. Zuzana Hálová](#) (M2, doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.)

Proteasy z Antarktického krillu

[Bc. Karolína Loužecká](#) (M2, Ing. Eva Benešová, Ph.D.)

Produkce a charakterizace asparaginasy iso 1 z chladově adaptované bakterie Arthrobacter polaris

[Bc. Daniel Maxa](#) (M2, Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.)

Příprava modelového systému pro studium inhibice bakteriálních efluxních pump

[Bc. Adéla Moravcová](#) (M2, prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.)

Exprese, purifikace a charakterizace SARS-CoV-2 3-CL proteasy

[Bc. David Řejha](#) (M2, doc. Ing. Lenka Burketová, CSc.)

Úloha přestavby aktinového cytoskeletu při obraně rostlin proti patogenům

[Bc. Magdalena Škrlová](#) (M2, Ing. Michaela Marková, Ph.D.)

*Struktura β -karbonické anhydrasy z *Candida parapsilosis* v komplexu s acetazolamidem*

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - ENZYMOLOGIE A PROTEOMIKA



*Příprava enzymů AAC(6′)-APH(2′′) a VanA způsobujících rezistenci proti antibiotikům u *Staphylococcus aureus**

Bc. Michal Dvořák (M1)

Školitel: doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.

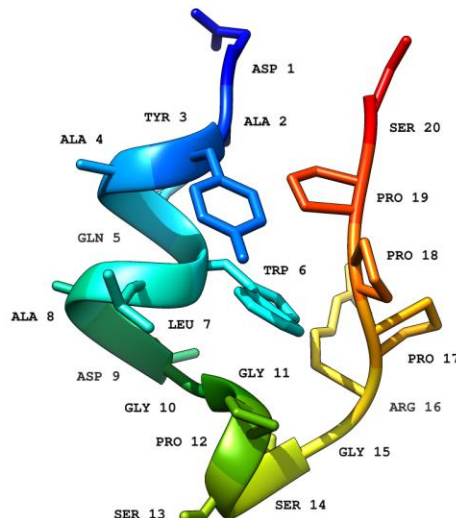
I přes velkou snahu o vývoj nových antibiotik šlapou bakterie, díky své přizpůsobivosti, lidstvu na paty a během krátké doby od zavedení nového antibiotika již bývají izolovány kmeny s rezistencí. Rezistentní bakterie jsou tak pro zdravotnictví velkým strašákem a pro léčbu jimi způsobovaných infekcí často nestačí ani antibiotika poslední volby. Již nyní tak po celém světě umírají statisíce lidí ročně na následky infekcí rezistentními bakteriemi. Z pohledu vývoje nových antibiotik bohužel žijeme v době temna. Od 90. let nebyla objevena žádná nová třída antibiotik. Samotných vhodných antibiotik pak přibývá pouze několik v rámci let. K nejnovějším přístupům v boji s rezistentními bakteriemi patří adjuvantní terapie. Ta spočívá v podávání inhibitorů procesů, které bakteriím umožňují eliminovat antibiotika. Cílem této práce jsou dva enzymy způsobující rezistenci u *Staphylococcus aureus*, konkrétně bifunkční enzym AAC(6′)-APH(2′′), destruktasa, která modifikuje některá aminoglykosidová antibiotika, a enzym VanA, který chrání buněčnou stěnu před jedním z bývalých antibiotik poslední volby - vankomycinem. Po klonování genů rezistence je nyní cílem enzymy izolovat, aby bylo možné sledovat mechanismus působení a vliv potenciálních inhibitorů na aktivitu zmiňovaných enzymů.

Zvyšování efektivity molekulárních simulací pomocí strojového učení

Bc. Helena Hradiská (M2)

Školitel: prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.

Molekulární simulace našly uplatnění v mnoha oblastech výzkumu, jako je například studium sbalování proteinů, které je ale časově náročné, a tak je potřeba tyto simulace urychlit. Tato práce se soustředí na urychlení simulace sbalování miniproteinu Trp-cage (tryptofanová klec) pomocí metadynamiky, která miniproteinu zabraňuje, aby se dlouho zdržoval v určité konformaci a snáze tak překonal energetické bariéry. Nejprve je však nutné popsat jednotlivé konformace systému, což může umožnit metoda tSNE (t-distributed stochastic neighbor embedding). Na základě záznamu simulace sbalování lze použít time-lagged tSNE (tlStSNE) pro vygenerování „2D mapy“ konformací a odlišit rychlé konformační změny od pomalých, které je nutné urychlit. Pro zvýšení efektivity výpočtu tlStSNE byla použita umělá neuronová síť (parametric tlStSNE). Po 350 ns simulace s použitím metadynamiky došlo ke sbalení miniproteinu. Dalším krokem této práce bude vyzkoušet spojení metadynamiky s paralelním temperováním.



Proteasy z Antarktického krillu

Bc. Zuzana Hálová (M2)

Školitel: doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.

Antarktický krill je příkladem organismu, který se evolučně přizpůsobil náročným životním podmínkám a vytvořil si velmi efektivní systém trávicích enzymů. Efektivita těchto enzymů spočívá v synergickém působení a koexistenci bez vzájemné degradace. Proteasy krillu mají široké možnosti uplatnění ve zdravotnictví, zejména v léčbě nehojivých ran, léčbě tromboembolické nemoci a v zubním lékařství k odstranění zubního plaku, ale i v potravinářském průmyslu, na příklad při tenderizaci masa. Pro purifikaci proteas krillu bylo vyvinuto několik postupů. Naším cílem je optimalizace jednoho z těchto postupů, s důrazem na snížení používání organických rozpouštědel, a získání proteas s fibrinolytickou aktivitou. Dalším přístupem k získání fibrinolytické proteasy z krillu je její rekombinantní příprava. Na základě analýzy predikovaných proteas z krillu bylo vybráno 6 proteas, u nichž byla provedena *in situ* analýza. Byly vyhledány a predikovány strukturní a funkční charakteristiky těchto proteas a vzájemně porovnány. Získané informace byly využity k zařazení proteas do proteinové rodiny a údaje byly porovnány s literaturou. Proteasa, nejvíce podobná fibrinolytickým proteasám, bude produkována rekombinantně v *E. coli*.

*Produkce a charakterizace asparaginasy iso 1 z chladově adaptované bakterie *Arthrobacter polaris**

Bc. Karolína Loužecká (M2)

Školitel: Ing. Eva Benešová, Ph.D.

L-Asparaginasa katalyzující reakci, při níž z L-asparaginu vzniká kyselina L-asparagová a amoniak, je využívána v medicíně více než 50 let, a sice v léčbě hematologických malignit, zvláště akutní lymfoblastické leukémie. Podstatou účinku je skutečnost, že nádorové buňky jsou citlivé na snížení koncentrace L-asparaginu v krvi, zatímco zdravé buňky dokáží dostatečně rychle na depleci L-asparaginu reagovat. I v potravinářství našla L-asparaginasa své uplatnění, a to jako aditivum zamezující vzniku akrylamidu, jehož je L-asparagin významným prekurzorem. Tímto enzymem mohou být před tepelnou úpravou ošetřeny např. kávové boby či bramborové lupínky. Doposud využívané L-asparaginasy mají některé limitující vlastnosti, které snižují jejich potenciál. Předpokládá se, že vhodným zdrojem nových enzymů s unikátními vlastnostmi by mohly být chladově adaptované organismy. Zde studovaná bakterie *Arthrobacter polaris* byla izolována z půdy v antarktické oblasti a teprve nedávno byla zjištěna kompletní sekvence jejího genomu. Během této práce byl úspěšně připraven plasmid obsahující gen L-asparaginasy z *A. polaris*. Následně byla rekombinantní L-asparaginasa produkována v *E. coli* BL21 (DE3) a po purifikaci pomocí afinitní chromatografie byla úspěšně ověřena její katalytická aktivita.

Příprava modelového systému pro studium inhibice bakteriálních efluxních pump

Bc. Daniel Maxa (M2)

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Bakterie ve svých genomech kódují efluxní pumpy, které jim umožňují přežít v prostředí plném pro ně nebezpečných látek. Tyto evolučně konzervované transportérové proteiny umožňují bakteriím transportovat z nitra bakteriální buňky různorodá xenobiotika, mezi která řadíme i antibiotika. Rezistence k antibiotikům zprostředkovaná efluxními pumpami se oproti jiným mechanismům rezistence vyznačuje velmi nízkou substrátovou specifitou, která u bakterií umožňuje vznik multirezistentních kmenů. Jako ochrana proti takto multirezistentním bakteriálním kmenům by v budoucnu mohly sloužit selektivní inhibitory efluxních pump, jež by mohly fungovat na principu antibiotických adjuvantů. Cílem této práce je příprava modelového bakteriálního systému pro testování inhibice vybraných efluxních pump. Pro práci byly vybrány efluxní pumpy AcrAB bakterie *Escherichia coli*, MexAB *Pseudomonas aeruginosa* a NorA *Staphylococcus aureus*. Geny jednotlivých efluxních pump byly amplifikovány z genomové DNA příslušných bakterií a následně byly/budou vloženy do vektoru pro jejich produkci v produkčním kmeni *E. coli*. Vektor pro produkci MexAB již byl připraven a tato efluxní pumpa byla v *E. coli* produkována.

Expresa, purifikace a charakterizace SARS-CoV-2 3-CL proteasy

Bc. Adéla Moravcová (M2)

Školitel: prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

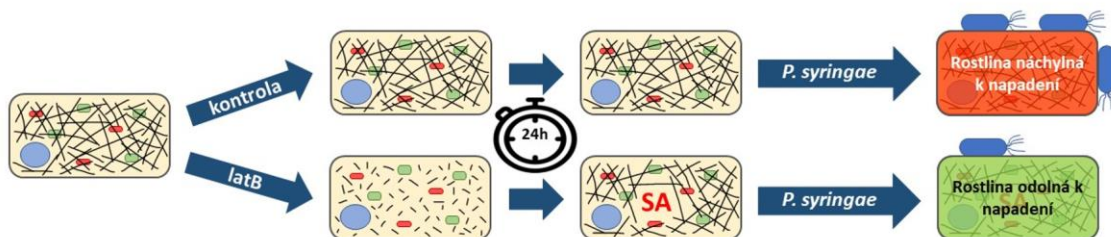
SARS-CoV-2 patří do rozsáhlé skupiny virů do čeledi *Coronaviridae*, rodiny *Betacoronavirus*. Genom virové částice je tvořen pozitivní jednořetězcovou RNA o velikosti cca 30 kb, která je chráněna proteinovým obalem. Hlavní proteasa (z angl. main, Mpro) nebo také 3- chymotrypsinu podobná cysteinová proteasa (z angl. 3C-like, 3-CLpro) se stala v poslední době významným cílem pro vývoj nových antivirových, neboť hraje klíčovou roli ve zpracování virového polyproteinu. 3-CLpro je proteasa se substrátovou specifitou pro P1 glutamin, hydrolyzující peptidovou vazbu na C-konci glutaminu. Štěpí virový polyprotein na 11 místech za vzniku nestrukturních proteinů, které dohromady formují replikační-transkripční komplex. Rozpoznávací sekvence na většině štěpných místech je Leu-Gln↓ (Ala, Gly, Ser). Každá podjednotka 3-CLpro obsahuje aktivní místo ve formě katalytické dyády H41-C145. Cílem této práce bylo hledání vhodného expresního systému pro expresi a purifikaci dostatečného množství maturní 3-CLpro SARS-CoV-2 a následně použití enzymu pro kinetická a biofyzikální měření, kterými by bylo možné 3-CLpro charakterizovat.

Úloha přestavby aktinového cytoskeletu při obraně rostlin proti patogenům

Bc. David Řejha (M2)

Školitel: doc. Ing. Lenka Burketová, CSc.

Aktinový cytoskelet je dynamická struktura rostlinné buňky, která jí dodává pevnost a umožňuje vnitrobuněčný transport. Fibrilární struktura aktinu je neustále přestavována. Polymerizace aktinu může být inhibována např. pomocí toxinu latrunculinu B (latB) nebo lidského proteinu GS1, což způsobuje jeho rozpad. Ten sice velmi často způsobuje, že se rostlina hůře brání patogenům, ale v naší laboratoři bylo zjištěno, že rozpad aktinového cytoskeletu, který předchází infekci, vede k zvýšení koncentrace kyseliny salicylové (SA). To vede k aktivaci obranných reakcí, což způsobuje, že se rostlina nakonec lépe brání infekci. Mechanismy způsobující tuto zvýšenou rezistenci ale nejsou známy a úkolem je bude hledat. Budou použity dva přístupy. Jedním je využití přírodní variace modelové rostliny *Arabidopsis thaliana*, kdy byla sada 186 ekotypů seřazena dle reakcí na ošetření latB. Na vybraných ekotypech bude po ošetření testována rezistence k patogenu *Pseudomonas syringae*, hladina SA a provedeno srovnání genomových sekvencí, za účelem odhalení kandidátních genů souvisejících s fenotypem rezistence. Druhým přístupem bude vytvoření rostliny s indukovatelným rozpadem aktinového cytoskeletu bez nutného farmakologického ošetření (DeAct systém).



*Struktura β -karbonické anhydrasy z *Candida parapsilosis* v komplexu s acetazolamidem*

Bc. Magdalena Škrlová (M2)

Školitel: Ing. Michaela Marková, Ph.D.

Kvasinky rodu *Candida* jsou celosvětově nejčastějšími původci oportunních mykotických infekcí neboli kandidóz. Tyto kvasinky jsou běžnou součástí komenzální mikroflóry, ovšem u imunosuprimovaných pacientů mohou způsobit infekce s úmrtností až 75 %. Jelikož narůstá výskyt patogenních druhů kvasinek se zvýšenou rezistencí vůči běžně používaným antimykotikům, je nutné identifikovat nová potenciální léčiva. Jednou z klíčových strategií přežití kvasinek je schopnost proliferovat v různých koncentracích CO_2 . Při regulaci koncentrace CO_2 je pro kvasinky zásadní enzym karbonická anhydrasa (CA), která až 10 000krát urychluje reverzibilní hydrataci CO_2 na HCO_3^- . Předpokládá se, že inhibice CA zamezí růstu kvasinek v podmínkách nízké koncentrace CO_2 . Protože se struktury CA kvasinek a savců liší, je tento enzym ideálním cílem pro vývoj nových antimykotik. Cílem práce bylo pomocí rentgenostrukturní analýzy stanovit strukturu β -CA z *C. parapsilosis* v komplexu s vybranými inhibitory. Byla izolována rekombinantní β -CA z *C. parapsilosis* v odpovídajícím množství a kvalitě. Byly nalezeny vhodné podmínky krystalizace, které poskytly krystaly použitelné pro sběr rentgenostrukturních dat. Na základě těchto dat se podařilo stanovit strukturu β -CA z *C. parapsilosis* v komplexu s acetazolamidem.

Charakterizace biologických materiálů

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D. (předseda)

Ing. Jan Sácký, Ph.D.

Ing. Simona Lencová, Ph.D.

PROGRAM

zahájení

[Bc. Tereza Boušková](#) (M2, prof. Dr. Ing. Radovan Hynek)

Proteomická analýza měkkých tkání ve vztahu k chirurgickým výkonům na bázi lební

[Bc. Julie Bromová](#) (M2, Ing. Eva Jablonská, Ph.D.)

Vysokokapacitní testování genotoxicity na savčích buňkách

[Bc. Lucie Mrázková](#) (M2, Ing. Eva Jablonská, Ph.D.)

Charakterizace buněčné linie lidských osteoblastů pro testování cytokompatibility degradovatelných biomateriálů

[Bc. Kristýna Petřeková](#) (M2, Ing. Petr Svoboda, Ph.D.)

Vliv nikotinamidfosforibosyltransferasy na parametry adipogeneze

[Bc. Adéla Provazníková](#) (M2, Ing. Adéla Jenišťová, Ph.D.)

Studium degradace rohovek pokročilými spektroskopickými metodami

[Bc. Sabina Seidlová](#) (M2, doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.)

Příprava a charakterizace senescentních dermálních fibroblastů pro použití do 3D laboratorního modelu chronické rány

[Bc. Michaela Špačková](#) (M2, Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.)

Vliv teploty na růst a diferenciaci lidských fetálních osteoblastů

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - CHARAKTERIZACE BIOLOGICKÝCH MATERIÁLŮ



Proteomická analýza měkkých tkání ve vztahu k chirurgickým výkonům na bázi lebni

Bc. Tereza Boušková (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Radovan Hynek

Vestibulární schwannom je nejčastěji se vyskytující benigní nádor ve vnitřním uchu. Skládá se ze Schwannomových buněk nacházejících se ve Vestibulokochleárním nervu. Nejčastějšími projevy onemocnění je ztráta stability, šelest v uchu, která přechází až do hluchoty a pokud se nádor neodstraní včas, může následovat i obrna dalších hlavových nervů. Vestibulární schwannom byl již studován pomocí diferenční gelové elektroforézy i pomocí hmotnostní spektrometrie na principu MALDI-TOF. Náš tým analyzuje Vestibulární schwannom a okolní tkáň metodou specifického štěpení proteinů trypsinem přímo ve vzorku následovaného tandemovou hmotností spektrometrií. Zatím se podařilo identifikovat zhruba 500 proteinů ve vzorku, z nichž některé mají zajímavé biologické nebo klinické role včetně spojitosti s nádorovým bujením.

Vysokokapacitní testování genotoxicity na savčích buňkách

Bc. Julie Bromová (M2)

Školitel: Ing. Eva Jablonská, Ph.D.

Především kvůli stále se rozvíjícímu potravinářskému, farmaceutickému a kosmetickému průmyslu, přicházíme do kontaktu s toxickými látkami čím dál častěji, což zvyšuje poptávku po rychlém a kvalitním systému testování nežádoucího genotoxického potenciálu. Regulačními orgány doporučené testy genotoxicity právě v rychlosti a kapacitě často zaostávají, a proto roste snaha validovat nové přístupy. Jednou z možností by mohlo být sledování vzniku fosforylovaného histonu 2AX (γ H2AX), jehož množství odráží míru poškození DNA. Naším cílem je s využitím γ H2AX navrhnout *in vitro* postup pro vysokokapacitní testování genotoxicity na savčích buňkách. Potenciálně genotoxické látky testujeme v 96-jamkové destičce na buněčné linii HeLa. Aplikujeme metodu, při které je detekce γ H2AX zprostředkována komerčně dostupnými fluorescenčně značenými specifickými protilátkami s následným vyhodnocením pomocí fluorescenční mikroskopie. Konkrétně na snímcích hodnotíme intenzitu fluorescence jednotlivých buněk. Po slibných výsledcích s testováním valinomycinu, jako pozitivní kontroly pro vznik zlomů DNA, chceme nyní přejít k testování dalších vzorků a pokusit se o snížení finančních nákladů na analýzu. Zároveň stále zdokonalujeme analýzu obrazu pro rychlé a automatizované zpracování fluorescenčních snímků.

Charakterizace buněčné linie lidských osteoblastů pro testování cytokompatibility degradovatelných biomateriálů

Bc. Lucie Mrázková (M2)

Školitel: Ing. Eva Jablonská, Ph.D.

Výzkum kostní tkáně je klíčovou oblastí při vývoji nových biomateriálů pro ortopedické aplikace. Vhodným modelem kostních buněk pro testování *in vitro* je komerčně dostupná buněčná linie hFOB 1.19, která představuje adherentní lidské osteoblasty připravené transfekcí pomocí teplotně senzitivního T-antigenu SV40. Cílem této práce je porovnání buněčné linie hFOB 1.19 s často používanou linií Saos-2 odvozenou od lidského osteosarkomu při dlouhodobé kultivaci za různých kultivačních podmínek, a dále zjištění jejich citlivosti vůči zinečnatým iontům. Naše dosavadní výsledky prokázaly nižší citlivost buněk hFOB 1.19 k Zn^{2+} iontům v porovnání s linií L929, která je pro testy cytotoxicity přímo doporučena normou. Předběžné výsledky dlouhodobé kultivace naznačují, že buňky hFOB 1.19 nevykazují tak výraznou aktivitu alkalické fosfatasy a mineralizace ECM jako linie Saos-2. Znaky diferenciací jsou však pozorovatelné již při kultivaci ve 37°C, navíc bez přítomnosti selekčního činidla, což bude zohledněno v dalších testech.

Vliv nikotinamidfosforibosyltransferasy na parametry adipogeneze

Bc. Kristýna Petřeková (M2)

Školitel: Ing. Petr Svoboda, Ph.D.

Tuková tkáň je mohutným sekrečním orgánem, který produkuje značné množství biologicky aktivních látek, tzv. adipokinů. Dysbalance v produkci adipokinů vede k rozvoji obezity a diabetes mellitus 2. typu. Nikotinamidfosforibosyltransferasa (Nampt) je enzym účinkující v syntéze NAD a bývá též prezentována jako adipokin s insulin-mimetickým působením. Naším dlouhodobým cílem je zjistit, zdali jsou účinky Nampt jako adipokinů zprostředkované její enzymovou aktivitou nebo nikoliv. V rámci této práce jsme sledovali vliv Nampt na adipogenezi 3T3-L1, a to ověřením vlivu Nampt na akumulaci triacylglycerolů (TAG). Pro toto zjištění jsme použili preadipocyty 3T3-L1 se stabilně zvýšenou produkcí Nampt v enzymově aktivní (Nampt-WT) a neaktivní (Nampt-D311A+R313A) formě a kontrolní linii 3T3-L1 s běžnou produkcí Nampt. Preadipocyty se všemi variantami Nampt podstoupily proces diferenciaci v adipocyty. Prostřednictvím Oil Red O a enzymatickým kitem jsme stanovili, že obsah intracelulárních TAG se mezi adipocyty s variantami Nampt neliší, avšak adipocyty s variantou Nampt-WT produkují vyšší množství extracelulárních TAG oproti kontrolní linii 3T3-L1 a Nampt-D311A+R313A. Výsledky naznačují, že působení Nampt na metabolismus tukové tkáně je pravděpodobně zapříčiněné enzymovou aktivitou.

Studium degradace rohovek pokročilými spektroskopickými metodami

Bc. Adéla Provazníková (M2)

Školitel: Ing. Adéla Jenišťová, Ph.D.

Rohovka je průhledná membrána, která tvoří jednu šestinu oční bulvy a je zodpovědná za lom světla vstupujícího do oka. Skládá se z pěti různých vrstev a každá z nich obsahuje specifické typy kolagenů, elastinu, fibronektinů, lamininů a proteoglykanů. Degradace rohovky je spojena se sníženou schopností odolávat širokému spektru fyziologických stresů. Změny na povrchu oka vlivem stárnutí rohovky způsobují větší náchylnost oka k infekci. Se zvyšujícím se věkem dochází ke zvýšení propustnosti epitelu, které může snížit funkci epiteliální bariéry. Cílem této práce je pomocí pokročilých metod infračervené a Ramanovy spektroskopie odhalit specifické změny v chemickém složení rohovky během její degradace. Izolované prasečí rohovky byly skladovány ve čtyřech různých roztocích (destilovaná voda, roztok na kontaktní čočky, Eusol-C a Tissue-C) a následně měřeny v konkrétních časových intervalech. Získaná spektra byla poté vyhodnocena vícerozměrnými statistickými metodami. Výsledky tohoto měření by měly být zohledněny při výběru vhodného uchovávacího média například při transplantaci očních rohovek.

Příprava a charakterizace senescentních dermálních fibroblastů pro použití do 3D laboratorního modelu chronické rány

Bc. Sabina Seidlová (M2)

Školitel: doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.

Jedním z faktorů komplikujících hojení chronických ran je přítomnost senescentních buněk (fibroblasty), které se chovají prozánětlivě a neplní svou funkci v hojení rány. Současné modely, které se používají ve výzkumu látek podporujících hojení chronických ran, však většinou používají nesenescenční fibroblasty. Tato práce se zabývá přípravou, charakterizací a zavedením senescentních fibroblastů do laboratorního 3D modelu chronické rány. U primárních kožních fibroblastů byla indukována senescence působením peroxidu vodíku. Před inkorporací do kolagenového gelu byla senescence u lidských fibroblastů potvrzena nárůstem β -galaktosidasové aktivity, signálu γ H2AX, změnou morfologie a genové exprese prozánětlivého IL-1 β , IL-8 a MMP3. Po inkorporaci do gelu bylo zachování senescentního fenotypu potvrzeno genovou expresí prozánětlivých IL-1 β , IL-6, IL-8, MMP1 a MMP3, a signálu γ H2AX. Podařilo se indukovat a potvrdit senescenci u lidských fibroblastů, které byly dále inkorporovány do kolagenu. Tato vrstva simulované dermis se osadí vrstvou keratinocytů. Dále bude vytvořen model rány a sledován vliv senescence na migraci nesenescenčních fibroblastů. Po zavedení modelu bude možné relevantněji sledovat vliv nových přípravků, které by mohly usnadnit proces hojení lidských chronických ran.

Vliv teploty na růst a diferenciaci lidských fetálních osteoblastů

Bc. Michaela Špačková (M2)

Školitel: Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.

Perspektivním modelovým systémem kostních buněk je buněčná linie lidských fetálních osteoblastů hFOB 1.19. Jedná se o preosteoblasty transfekované genem kódujícím tepelně senzitivní velký T antigen z opičího viru SV40 a genem pro rezistenci k neomycinu. Pro tuto buněčnou linii jsou charakteristické dvě kultivační teploty: permissivní teplota (34 °C), při které se buňky rychle dělí, dochází k expresi vneseného genu – buňky zůstávají ve formě preosteoblastů a teplota restriktivní (39,5 °C), při níž buňky diferencují. Při diferenciaci dochází k produkci osteopontinu, osteonektinu, kostního sialoproteinu, alkalické fosfatasy a kolagenu typu I. Pomocí jejich hladin lze sledovat fáze diferenciaci osteoblastů. V našich experimentech jsme sledovali hladiny proteinů buněk hFOB 1.19 kultivovaných při teplotě 34, 39,5 a dále standardních 37 °C. Pro identifikaci proteinů byly vzorky podrobeny LC-MS/MS analýze, poté byla provedena label-free kvantifikace. Ukázalo se, že při kultivaci v restriktivní teplotě byla zvýšená hladina kolagenu typu I a enzymů, které se podílejí na jeho tvorbě a modifikaci. Dále byly nalezeny zvýšené hladiny proteinů tepelného šoku a proteinů účastnících se odpovědi na buněčný stres. Hladiny jaderných proteinů byly sníženy.

Imunochemie a imunologie

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D. (předseda)

Ing. Zita Holík Purkrtová, Ph.D.

Ing. Barbora Křížková

PROGRAM

zahájení

[Bc. Fresia Esther Arellano Herencia](#) (M2, prof. Ing. Peter Šebo, CSc.)

Chakterizace imunitní odpovědi na intranasální imunizaci myší antigeny původce černého kašle

[Bc. Petra Kamenská](#) (M2, doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D.)

Imunochromatografická detekce testosteronu

[Bc. Anežka Kramná](#) (M1, prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.)

Developing antibody mimetics to target cancer antigens

[Bc. Radka Mlázovská](#) (M2, doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D.)

Příprava a charakterizace komponent pro sestavení imunotestu pro detekci kortizolu a testosteronu

[Bc. Eliška Navrátilová](#) (M2, Ing. Ludmila Karamonová, Ph.D.)

Imunochemické stanovení mozkového neurotrofického faktoru a oxytocinu při testování nových metod léčby deprese

[Bc. Bára Procházková](#) (M2, Ing. Ludmila Karamonová, Ph.D.)

Stanovení růstového hormonu a jeho fragmentů pomocí enzymové imunoanalýzy na pevné fázi

[Bc. Tereza Vlasáková](#) (M2, doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D.)

Diagnostická souprava pro stanovení aldosteronu

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - IMUNOCHEMIE A IMUNOLOGIE

MERCK



Chakterizace imunitní odpovědi na intranasální imunizaci myší antigeny původce černého kašle

Bc. Fresia Esther Arellano Herencia (M2)

Školitel: prof. Ing. Peter Šebo, CSc.

Chakterizace imunitní odpovědi na intranasální imunizaci myší antigeny původce černého kašle. Intranasální vakcinace má potenciál navodit jak slizniční, tak systémovou imunitní odpověď a může vyvolat takzvanou sterilizační imunitu, schopnou zabránit kolonizaci organismu patogenem v místě vstupu infekce. Prostup antigenů do slizniční tkáně po intranasálním podání vakcíny je zásadním faktorem pro navození slizniční imunitní odpovědi. Je omezen několika faktory, jako je epiteliální bariéra, enzymatická degradace antigenů a jejich odstraňování s hlenem takzvaným mukociliárním čištěním sliznice. Proto je při návrhu slizničních vakcín důležité použití účinného adjuvans pro navození imunitní odpovědi na sliznici. Jedním z vhodných přístupů je enkapsulace antigenů v systému nanočástic umožňujících intranasální aplikaci vakcín. Takový systém může sloužit nejen jako systém pro podávání antigenu, ale také jako vhodné adjuvans. Cílem tohoto projektu je prověřit možnosti enkapsulace rekombinantních antigenů bakterie *Bordetella pertussis* (Prn, Prn-RTX908, sPrn, sPrn-RTX908, RTX908) do nanočásticových systémů trimethylchitosanu pomocí metody ionotropní gelace. Připravené experimentální částice pak budou testovány jako intranasální vakcína proti černému kašli na myších.

Imunochromatografická detekce testosteronu

Bc. Petra Kamenská (M2)

Školitel: doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D.

Testosterón a jeho syntetické deriváty, nazývané ako anabolicko-androgénne steroidy, tvoria podľa Svetovej antidopingovej agentúry každoročne približne polovicu všetkých zneužívaných látok na nelegálne dopingové účely. Problém dopingu na báze steroidov nesúvisí len s nevyrovnaným výkonom súťažiacich počas športových súťaží, ale najmä so zdravím užívateľov týchto anabolík. Cieľom tejto diplomovej práce je preto vyvinúť funkčný imunochromatografický test na detekciu testosterónu ako rýchlu, lacnú a nenáročnú alternatívu k súčasným analytickým metódam detekcie testosterónu. Na tvorbu kompetitívneho formátu imunochromatografického testu bol k dispozícii testosterón konjugovaný s proteínom a dve skupinovo špecifické protilátky. Ako prvý bol využitý konjugát testosterón-ovalbumín, ktorý neposkytoval dostatočne intenzívne testovacie línie, preto sme pristúpili na testosterón konjugovaný s králičím sérovým albumínom. Po zostavení prvotných imunochromatografických testov s novým konjugátom bol stanovený jeho vizuálny detekčný limit v stovkách ng/ml. Na zostrojenie plne funkčného imunochromatografického testu budú nasledujúce experimenty venované výberu vhodných komponentov a podmienok (typ membrány, koncentrácia zlatých nanočastíc a skupinovo špecifických protilátok, ...).

Developing antibody mimetics to target cancer antigens

Bc. Anežka Kramná (M1)

Školitel: prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

New methods of cancer treatment are investigated to eliminate tumor cells more effectively. Lately, antibody-drug conjugates, where a toxic molecule is linked to an antibody recognizing a cancer antigen, have been introduced. We developed synthetic antibody mimetics targeting prostate-specific membrane antigen (PSMA), called iBodies. iBodies are polymers consisting of N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide backbone bearing small molecules for visualization and binding of a target protein. We prepared series of iBodies decorated with a specific ligand of PSMA and a cytostatic drug attached to the backbone via a cleavable linker. After internalization and cleavage of the linker by lysosomal enzymes, the drug is released and stops cell proliferation. Prepared iBodies bind to the cells as determined by flow cytometry and fluorescent microscopy. The cytotoxic effect was measured via resazurin and CellTiter-Glo viability assays on HEK293 pTet-Off A2 cells transfected with PSMA in comparison with HEK293, where iBody with or without a PSMA inhibitor was used. The specificity and the cytotoxic effect of the iBody bearing the PSMA inhibitor was observed. For further evaluation, experiments using cell lines with endogenous expression of PSMA and using other variants of iBodies will be performed.

Příprava a charakterizace komponent pro sestavení imunotestu pro detekci kortizolu a testosteronu

Bc. Radka Mlázovská (M2)

Školitel: doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D.

Testosteron je steroidní hormon využívaný jako anabolikum. V klinických laboratořích je analyzován metodami, které jsou časově a technicky náročné. Bylo by proto vhodné vyvinout metodu, která by zrychlila a zjednodušila detekci testosteronu ve vzorku. Dalším významným steroidním hormonem je kortizol. Jeho hladiny jsou vyšetřovány v humánních i veterinárních klinických laboratořích. Pro pacienty čekající na operaci může vést urychlení procesu detekce kortizolu ke snížení nepohodlí a stresu. Metodou splňující zmíněné požadavky může být imunochromatografický test (ICT). Tato práce se zaměřuje na konjugáty bílkovin se steroidními hormony, které budou dále využity pro přípravu ICT. Konkrétně se jedná o konjugáty králíčího sérového albuminu s kortizolem a testosteronem. Cílem byla jejich příprava a následné ověření jejich funkčnosti pomocí povrchové plasmonové rezonance (SPR). První data zpracovaná s využitím programu Origin ukazují, že dochází k interakci obou konjugátů s polyklonální protilátkou.

Imunochemické stanovení mozkového neurotrofického faktoru a oxytocinu při testování nových metod léčby deprese

Bc. Eliška Navrátilová (M2)

Školitel: Ing. Ludmila Karamonová, Ph.D.

Depresivní porucha, častěji označována jako deprese, je vážná porucha centrálního nervového systému charakterizovaná četnými emočními, kognitivními a neuroendokrinními poruchami. Deprese narušuje schopnost „normálně“ fungovat, soustředit se i na nejjednodušší úkony, snižuje pracovní výkonnost i schopnost soustavné činnosti. Deprese totiž negativně ovlivňuje neuroplasticitu – dochází ke ztrátám dendritických trnů, synapsí atd. Nejčastějším způsobem léčby jsou klasická antidepresiva. Bohužel je stále více pacientů rezistentních ke klasické antidepresivní léčbě, a proto je nezbytné hledat alternativní medikaci. Ve spolupráci s Národním ústavem duševního zdraví v Klecanech analyzujeme účinnost alternativní léčby v podobě ketaminu a psilocybinu. Cílem této práce je kvantifikace oxytocinu a neurotrofického mozkového faktoru v krvi alternativně léčených pacientů, jelikož tyto látky odrážejí pozitivní vliv léčby na neuroplasticitu. Před samotným odběrem vzorků od pacientů bylo nutné stanovit vhodné odběrové podmínky, matrici a její zpracování a komerční ELISA kity poskytující validní hodnoty koncentrací sledovaných markerů. Bylo zjištěno, že nejvhodnější matricí pro analýzu je sérum bez přísad inhibitorů proteas. Vhodné ELISA kity byly vybrány od firem Arbor Assays Inc. a Abcam plc.

Stanovení růstového hormonu a jeho fragmentů pomocí enzymové imunoanalýzy na pevné fázi

Bc. Bára Procházková (M2)

Školitel: Ing. Ludmila Karamonová, Ph.D.

K zneužívání látek zvyšujících fyzickou výkonnost sportovců dochází bohužel dlouhodobě. V dnešní době však vzniká velké množství nových dopingových přípravků. Mezi ně patří i rekombinantní růstový hormon, jehož aminokyselinová sekvence je identická s hlavní izoformou endogenního růstového hormonu vylučovaného hypofýzou. Dále se čím dál častěji na trhu objevují fragmenty tohoto hormonu, které by měly mít stejné účinky na svalovou a tukovou tkáň jako kompletní růstový hormon, zároveň by však jejich užití nemělo být snadno prokazatelné. Cílem této práce je vyvinout citlivou imunoanalýzu umožňující detekci růstového hormonu a jeho fragmentů v nelegálních komerčních preparátech určených pro sportovce. Nejprve byly sledovány interakce různých protilátek s odlišnými typy imobilizovaného rekombinantního růstového hormonu. Testovány byly monoklonální i polyklonální protilátky, připravené proti celému proteinu i pouze proti epitopu obsahujícímu cílový fragment. Poté byly vybrány vhodné podmínky pro stanovení růstového hormonu a metoda byla použita pro analýzu vzorku zachyceného Policií ČR. Nově vyvinutá metoda byla schopna, na rozdíl od komerčního kitu, přítomnost růstového hormonu ve vzorku potvrdit. Dále bude vyvíjena enzymová imunoanalýza pro přímou detekci jednotlivých fragmentů.

Diagnostická souprava pro stanovení aldosteronu

Bc. Tereza Vlasáková (M2)

Školitel: doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D.

Aldosteron je steroidní hormon s významnou mineralokortikoidní aktivitou. Jeho sekrece z buněk kůry nadledvin je primárně stimulována prostřednictvím systému renin-angiotenzin-aldosteron. Aldosteron podporuje resorpci sodíku a vody v ledvinách, zároveň stimuluje sekreci vodíku a draslíku do moči. Jeho nadměrná produkce v nadledvinách vede k primárnímu aldosteronismu, jenž je spojen s vyšším tlakem. Tato příčina hypertenze je mnohem častější, než se dříve myslelo, převládá v rozmezí od 5 do 25 %. Firma Immunotech s.r.o. vyrábí diagnostickou soupravu pro stanovení aldosteronu pomocí radioimunoanalýzy. Aldosteron je měřen ve třech matricích, během inkubace probíhá kompetice mezi značeným aldosteronem a aldosteronem ve vzorku o omezený počet vazebných míst na imobilizované protilátce. Po odsátí roztoku s nenavázanými analyty se pomocí gama-čítače měří elektrické impulzy za minutu. Cílem této práce bylo zjistit výkonnostní parametry prototypu této soupravy jako jsou limity slepého vzorku, detekce a kvantifikace. Hodnota limitu kvantifikace byla stanovena na úrovni $39,9 \text{ pg.ml}^{-1}$. Následně byly provedeny korelace výsledků mezi stávající verzí a aktualizovanou verzí soupravy. Pro vzorky séra a plazmy korelace splňuje daná kritéria, pro vzorky moči je potřeba provést ještě další analýzu.

Mikrobiologie

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D. (předseda)

Ing. Eva Jablonská, Ph.D.

Ing. Jiří Novotný

PROGRAM

zahájení

[Bc. Tereza Bočková](#) (M2, doc. Ing. Petra Lovecká, Ph.D.)

Izolace a charakterizace endofytních mikroorganismů ze semen pšenice seté

[Bc. Markéta Fajfrová](#) (M2, prof. Ing. Peter Šebo, CSc.)

*Adenylátcyklázový toxin bakterie *Bordetella pertussis* vyvolává epigenetické modifikace*

[Bc. Kristýna Klementová](#) (M2, doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.)

Inhibice quorum sensing vybraných bakteriálních kmenů rezistentním k antibiotikům pomocí rostlinných extraktů

[Bc. Jan Křestán](#) (M2, doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.)

*Příprava kmenů *Saccharomyces cerevisiae* produkujících peptidy navržené pomocí neuronových sítí a testování jejich schopnosti vázat kovy*

[Bc. Anna Ludvíková](#) (M2, Ing. Hana Sýkorová, Ph.D.)

Charakterizace vláknitých mikromycet a jejich vliv na archivní fotografické materiály

[Bc. Soňa Militká](#) (M2, Ing. Hana Stiborová, Ph.D.)

Vliv biocharu a minerálního hnojiva na rhizosféru a endofytní mikrobiotu

[Bc. Viet Nga Tranová](#) (M2, Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.)

Taxonomická charakterizace fylogeneticky nových kmenů izolovaných z vod radonových pramenů v Jáchymově

[Bc. Martina Verbová](#) (M2, Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.)

*Neistoty stanovenia rodu *Enterococcus* vo vodách*

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - MIKROBIOLOGIE



Izolace a charakterizace endofytních mikroorganismů ze semen pšenice seté

Bc. Tereza Bočková (M2)

Školitel: doc. Ing. Petra Lovecká, Ph.D.

Endofytní mikroorganismy jsou významnou součástí všech rostlin. Kolonizují rostlinné orgány a vytváří složité interakce, které jsou zpravidla oboustranně prospěšné. Rostliny poskytují endofytům výživu a ochranu, na druhou stranu od nich získávají důležité funkční metabolity pozitivně ovlivňující jejich růst a vývoj. Díky těmto vlastnostem lze spatřit v endofytech možnou alternativu pesticidů používaných v zemědělství. Pesticidy sice zajišťují vysokou zemědělskou produkci, ale jsou spojeny také s riziky pro člověka i životní prostředí. Tato práce se zabývá izolací a charakterizací přirozeně se vyskytujících mikroorganismů v semenech pšenice seté (*Triticum aestivum*). Izolováno bylo 34 bakterií, 2 kvasinky a 8 mikroskopických vláknitých hub. Bakterie byly následně identifikovány metodou MALDI-TOF-MS. U bakterií a kvasinek byla provedena charakterizace vlastností podporujících růst rostlin analýzou produkce bioaktivních látek a enzymů. Následovat bude testování vlivu bakteriálních endofytních izolátů s nejvyšší aktivitou na klíčivost semen a růst pšenice měřením fyziologických a morfologických paramterů rostliny, případně budou tyto izoláty identifikovány pomocí sekvenace genu 16S rRNA.

Adenylátcyklázový toxin bakterie Bordetella pertussis vyvolává epigenetické modifikace

Bc. Markéta Fajfrová (M2)

Školitel: prof. Ing. Peter Šebo, CSc.

Bakterie *Bordetella pertussis*, původce černého kašle, je schopna překonat imunitní obranu hostitele za účelem kolonizace horních cest dýchacích. K tomu ji slouží řada virulenčních faktorů včetně adenylátcyklázového toxinu (CyaA), který cílí na myeloidní fagocyty exprimující CR3-receptor a blokuje jejich baktericidní funkce vyvoláním nadprodukce cAMP jako signální molekuly. To vede k inhibici diferenciaci primárních monocytů na baktericidní makrofágy. Naše výsledky naznačují, že signalizace zprostředkovaná cAMP aktivuje proteinkinázu A, která následně modifikuje klíčové lysinové zbytky na histonech a spouští tvorbu transkripčně inaktivního heterochromatinu. Nedochází tedy k expresi genů potřebných pro diferenciaci. Ukázali jsme, že Trichostatin-A, který inhibuje histondeacetylázy, snižuje účinnost inhibice diferenciaci monocytů na makrofágy. Tyto výsledky odhalují mechanismus, kterým se *B. pertussis* vyhýbá vrozené imunitní obraně, aby se mohla rozmnožit a přenést na nového hostitele.

Inhibice quorum sensing vybraných bakteriálních kmenů rezistentním k antibiotikům pomocí rostlinných extraktů

Bc. Kristýna Klementová (M2)

Školitel: doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.

Bakterie rezistentní vůči účinku antibiotik jsou jednou z největších současných hrozeb pro lidské zdraví. Vývoj nových antibiotik nedrží krok s rozvojem rezistence, proto je potřeba hledat alternativní přístupy. Velmi slibně se jeví antivirulentní přístup, který se zaměřuje na inhibici bakteriální mezibuněčné komunikace (tzv. quorum sensing, QS). QS reguluje klíčové geny pro produkci virulentních faktorů nebo tvorbu biofilmu, což má za následek rozvoj patogenity dané bakterie. V rámci této práce je zkoumána schopnost rostlinných extraktů inhibovat bakteriální komunikaci u vybraných klinických izolátů rezistentních kmenů *Pseudomonas aeruginosa* a *Staphylococcus aureus*. K tomuto účelu byla zavedena reportérová metoda, při které jsou využity dva kmeny *Vibrio campbellii* schopné odpovídat na určité typy autoinduktorů luminiscencí. Natě slézu, jahodníku, řepíku i šalvěje a květ bezu i heřmánku jsou součástí tradičního léčitelství již po staletí. V rámci této práce jsme prokázali, že ethanolové extrakty těchto rostlin tak výrazně snižují virulenci sledovaných bakterií inhibicí mezibuněčné bakteriální komunikace založené na autoinduktorech typu furanů a furanosylborátů.

*Příprava kmenů *Saccharomyces cerevisiae* produkujících peptidy navržené pomocí neuronových sítí a testování jejich schopnosti vázat kovy*

Bc. Jan Křestán (M2)

Školitel: doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.

Metalothioneiny jsou peptidy, které jsou díky svým řetězcům bohatým na cystein schopny vázat těžké kovy. Organismus je díky této vlastnosti využívají k ochraně buněk před vystavením nadměrnému množství kovů, čímž se zamezuje vzniku oxidačního stresu, který může být pro buňky fatální. Rekombinantní metalothioneiny mají potenciál především v bioremediaci prostředí kontaminovaných kovy. Rovněž se jejich hlubším zkoumáním odhaluje role metalothioneinů v karcinogenezi a případné možnosti terapie. Umělé neuronové sítě jsou složitý počítačový algoritmus navržený na základě podobnosti s fungováním lidského mozku. Systém je schopen tzv. strojového učení. Do programu jsou zadány sekvence známých metalothioneinů a na základě podobnosti sekvencí jsou generovány zcela nové sekvence peptidů. Cílem této práce je ověření schopnosti neuronových sítí navrhnout funkční peptidy, které se běžně nevyskytují v přírodě. Ověřování funkčnosti je prováděno přípravou vybraných rekombinantních kmenů kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*. Tyto kmeny obsahují plazmid se syntetickým genem pro vybrané uměle navržené peptidy. Následným testováním tolerance kvasinek vůči kovům je ověřována aktivita těchto peptidů.

Charakterizace vláknitých mikromycet a jejich vliv na archivní fotografické materiály

Bc. Anna Ludvíková (M2)

Školitel: Ing. Hana Sýkorová, Ph.D.

Archivní fotografické materiály se dnes považují za kulturní dědictví, ale zároveň i historické prameny. Tyto fotografie jsou z vrstveného materiálu. Na nosič (nejčastěji papír) je nanášena světlocitlivá vrstva (emulze), která obsahuje halogenidy stříbra rozptýlené v pojivu. Mezi nejčastěji užívaná pojiva se řadí albumin, želatina nebo kolodium. Právě tyto materiály fotosenzitivní vrstvy mohou být snadným zdrojem živin pro mikroorganismy. Největší riziko představují především vláknité mikromycety – plísně. Pokud nastanou vhodné podmínky pro mikrobiální růst, mohou být archivní fotografické materiály nenávratně zničeny. Může se jednat o mechanické nebo biochemické poškození. Biodegradační potenciál vláknitých mikromycet spočívá v produkci extracelulárních enzymů a dalších látek, které vážně poškozují světlocitlivou vrstvu archivních fotografických materiálů. Proto se v archivech, knihovnách, či muzeích, kde jsou tyto fotografie uloženy, velmi dbá na vhodné prostředí, které předchází růstu mikroorganismů. Cílem této práce je charakterizace souboru vybraných izolátů vláknitých mikromycet, které se na archivních materiálech běžně nevyskytují, z hlediska jejich biodegradačního potenciálu a citlivosti k doporučeným dezinfekčním prostředkům.

Vliv biocharu a minerálního hnojiva na rhizosférní a endofytní mikrobiotu

Bc. Soňa Militká (M2)

Školitel: Ing. Hana Stiborová, Ph.D.

Zemědělské plodiny žijí jako většina rostlin v symbiotickém vztahu s mikroorganismy (MO), které mohou ovlivňovat stav rostlin, podporovat jejich růst a výnosnost. Současné agronomické strategie se snaží vést k udržitelnému zemědělství a zároveň k maximální výnosnosti plodin. Jakýkoliv zásah do půdního ekosystému však ovlivňuje rovněž půdní, rhizosférní a endofytní MO a tím nepřímo produktivitu rostlin. V této práci je sledován vliv minerálního hnojiva (NPK) a biocharu na rhizosférní a endofytní mikrobiotu kukuřice seté. Rostliny byly pěstovány ve dvou typech půd, v kambizemi a luvizemi, za tří různých podmínek: i) kontrolní půda bez hnojení, ii) půdy hnojené minerálním hnojivem a iii) půdy s přidavkem biocharu (5 % hm.). Použitý biochar byl připraven ze zbytků po separaci kuřecího masa při teplotě 500 °C. Celkem bylo analyzováno 48 vzorků rhizosféry a 24 vzorků kořenů. Ze všech vzorků byla izolována celková genomová DNA, ze které byly amplifikovány taxonomické markery, 16S rRNA (sloužící k charakterizaci prokaryot) a ITS region (pro identifikaci eukaryot). Z amplifikovaných úseků byla připravena knihovna a sekvenace bude probíhat pomocí metody Illumina MiSeq. Ze získaných dat bude vyhodnocena mikrobiální diverzita a změny v zastoupení jednotlivých MO.

Taxonomická charakterizace fylogeneticky nových kmenů izolovaných z vod radonových pramenů v Jáchymově

Bc. Viet Nga Tranová (M2)

Školitel: Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.

Extrémní podmínky pramenů vyvěrajících ve stříbro-uranových jáchymovských dolech vytváří, díky své radioaktivitě a izolovanosti, unikátní prostředí, ve kterém je možno předpokládat výskyt dosud nepopsaných mikroorganismů. V rámci mikrobiální analýzy těchto vod byly izolovány tři potenciálně fylogeneticky nové bakteriální druhy. K potvrzení jejich novosti a následnému etablování těchto nových taxonů byl využit polyfázní přístup, který k popisu mikroorganismů využívá současně analýzu genotypových a fenotypových vlastností. Na základě sekvenace genu pro 16S rRNA byli určeni nejbližší typoví zástupci zkoumaných izolátů a jednalo se o *Hymenobacter russus* BT18^T (98,10 % sekvenční podobnosti), *Mesorhizobium qingshengii* CCBAU 33460^T (98,30 %) a *Pseudomonas campii* S1-A32-2^T (99,93 %). V rámci fenotypové analýzy bylo zjištěno, že se jedná o gramnegativní, aerobní, mesofilní, alkalifilní bakterie, které během kultivace vyžadují nízkou koncentraci NaCl. Za pomoci komerčních sestav APIZYM a BIOLOG byla prokázána schopnost utilizace pouze omezeného spektra sacharidů. Vzhledem k původu izolátů bude následně testována jejich rezistence k reaktivním formám kyslíku. Výsledkem charakterizace izolátů bude jejich fylogenetická a fenotypová analýza a etablování nových bakteriálních taxonů.

Neistoty stanovenia rodu *Enterococcus* vo vodách

Bc. Martina Verbová (M2)

Školiteľ: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Rod *Enterococcus* sú grampozitívne, fakultatívne anaeróbné a nesporulujúce koky. Prirodzene sa vyskytujúce v črevnej mikroflóre. Optimálna teplota pre ich rast je medzi 35 a 37 °C. Voda nie je ich prirodzeným prostredím, avšak môžeme ich nájsť v povrchových alebo odpadných vodách. Vyskytujú sa tu druhy ako *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans* a *Enterococcus hirae*, ktoré sa tu dostanú pravdepodobne z výkalov zvierat a ľudí. Je ich preto možné považovať za indikátory fekálneho znečistenia. Intestinálne enterokoky sú kataláza negatívne baktérie, ktoré obvykle tvoria retiazky. Na ich stanovenie som použila postup podľa normy ISO 7899-2 a následne vypočítala neistoty stanovenia. Metódou podľa tejto normy môžu byť stanovené *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus durans* a *Enterococcus hirae*. Neistota merania je parametrom kvality výsledku merania a jej odhad je teda veľmi dôležitý. Údaj o neistote merania by mal byť neoddeliteľnou súčasťou vyjadrovania výsledku merania a hrá významnú úlohu v prípadoch, kedy sa výsledky merania vzťahujú k nejakej hraničnej hodnote. Stanovenie neistoty je súčasťou správnej laboratórnej praxe a poskytuje cennú informáciu o kvalite a spoľahlivosti merania.

Virologie

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

KOMISE

doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D. (předseda)

Ing. Eva Benešová, Ph.D.

PharmDr. Jindřiška Angelini, Ph.D.

PROGRAM

zahájení

[Bc. Tomáš Duchoň](#) (M2, Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.)

Studium sekvenčního štěpení N-terminálního fragmentu polyproteinu Gag viru HIV-1

[Bc. Lucie Hodbodová](#) (M1, Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.)

Příprava HIV-1 proteasy a fúzních proteinů odvozených od matrixového a kapsidového proteinu viru HIV-1 pro studium jejich interakce

[Bc. Michaela Hromádková](#) (M2, Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.)

Příprava fúzních retrovirových polyproteinů pro studium aktivace proteasy M-PMV in vitro

[Bc. Miroslava Mecová](#) (M2, Ing. Jan Prchal, Ph.D.)

Interakce matrixového proteinu M-PMV s kalmodulinem

[Bc. Henrietta Ottová](#) (M2, Ing. Jan Prchal, Ph.D.)

Interakce integrasy Mason-Pfizerova opičího viru se strukturními proteiny virové částice

[Bc. Aneta Pagáčová](#) (M2, prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.)

Příprava magneticky naváděných virům podobných částic a ověření jejich funkčnosti

[Bc. Michal Sončík](#) (M2, Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.)

Mechanismus reaktivace latentního HIV-1 pomocí hem arginátu

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - VIROLOGIE



Studium sekvenčního štěpení N-terminálního fragmentu polyproteinu Gag viru HIV-1

Bc. Tomáš Duchoň (M2)

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Nezralá virová částice viru HIV-1 se v hostitelské buňce skládá na cytoplasmatické membráně, přes kterou posléze pučí a procesem zvaným maturace vzniká nová částice. Hlavní strukturní polyprotein viru HIV-1 se nazývá Gag a během maturace je virovou proteasou štěpen na jednotlivé strukturní proteiny. Polyprotein Gag se skládá z matrixové (MA) a kapsidové (CA) domény, peptidu SP1, nukleokapsidové (NC) domény, peptidu SP2 a domény p6. MA doména je myristoylována a může se nacházet ve dvou konformacích, se zbytkem kyseliny myristové zanořeným do MA nebo exponovaným ze struktury MA (myristoylový přepínač). Polyprotein Gag je štěpen sekvenčně za vzniku fragmentu MACASP1, který je štěpen na MA a CASP1 a posledním krokem je odštěpení peptidu SP1. Blokací odštěpení MA od CA v důsledku mutace je negativně ovlivněno i odštěpení SP1. Podobný efekt byl pozorován u mutantu MA V7R se zablokováným myristoylovým přepínačem. Cílem této práce je příprava N-terminálního fragmentu Gag MACASP1 pro studium sekvenčního štěpení a vlivu myristoylového přepínače na štěpení. Byly připraveny vektory pro produkci MACASP1 a MA(V7R)CASP1 pro produkci v bakteriálních buňkách a oba tyto proteiny byly produkovány v myristoylované formě. Bylo provedeno štěpení, jehož analýza potvrdila sekvenční štěpení MACASP1.

Příprava HIV-1 proteasy a fúzních proteinů odvozených od matrixového a kapsidového proteinu viru HIV-1 pro studium jejich interakce

Bc. Lucie Hodbod'ová (M1)

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Maturace je stěžejním krokem životního cyklu retrovirů, včetně viru HIV-1, při kterém dochází k přeměně neinfekčních nezralých virových částic na infekční zralé částice. V procesu katalyzovaném virovou proteasou dochází k sekvenčnímu štěpení retrovirových polyproteinů na jednotlivé strukturní proteiny a enzymy. Přesný mechanismus tohoto štěpení zůstává zatím neobjasněn, ačkoliv je virus HIV-1 znám od roku 1983. HIV-1 proteasa není sekvenčně specifická a předpokládá se, že rozpoznání cílových sekvencí by mohlo být umožněno její interakcí s globulárními doménami polyproteinu Gag. Cílem práce je studium interakce virové proteasy s fúzními proteiny odvozenými od polyproteinu Gag, které se liší právě přítomností globulární domény po stranách štěpného místa. Pro studium této interakce bylo nutné připravit aktivní proteasu HIV-1 a tři fúzní proteiny. Tyto proteiny se skládají z matrixového proteinu a N-terminální domény kapsidového proteinu viru HIV-1, mezi kterými se nachází štěpné místo pro proteasu, nebo pouze z jednoho proteinu a fragmentu druhého. Byly připraveny potřebné vektory a požadované proteiny byly produkovány a izolovány. Následně bude provedeno štěpení připravených fúzních proteinů a bude sledován vliv přítomnosti globulárních domén na štěpení těchto proteinů proteasou.

Příprava fúzních retrovirových polyproteinů pro studium aktivace proteasy M-PMV in vitro

Bc. Michaela Hromádková (M2)

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

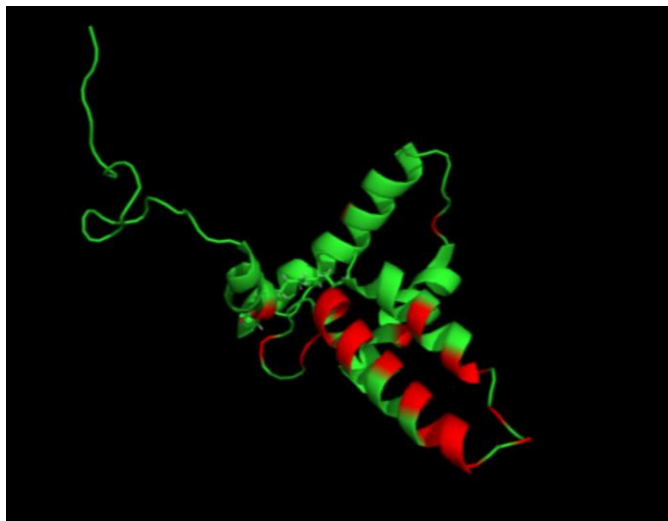
Infekčnost retrovirových částic je podmíněna štěpením retrovirových polyproteinů na jednotlivé strukturní proteiny a enzymy pomocí virové proteasy. V důsledku štěpení dochází k přestavbě virové částice a změnám v jejím vnitřním uspořádání. Z dřívějších výzkumů je známo, že proteolýza podléhá přísné regulaci, ale mechanismus aktivace proteasy nebyl doposud uspokojivě objasněn. V této práci byl použit DNA konstrukt kódující fúzní polyprotein složený z kapsidové, nukleokapsidové a p4 domény Gag Masonova-Pfizerova opičího viru (M-PMV), který obsahuje na C-konci M-PMV proteasu (M-CANC-p4-PR). Tento vektor byl použit pro produkci M-CANC-p4-PR v bakteriálním expresním systému *E. coli* BL 21 (DE3). Připravený fúzní protein měl být použit pro studium aktivace proteasy *in vitro*. Analýzou vzorků z produkce a izolace tohoto fúzního proteinu se však ukázalo, že již v bakteriálních buňkách dochází k jeho štěpení. V současné době probíhá příprava vektoru pro produkci M-CANC-p4-PR s inaktivní proteasou pro ověření hypotézy, že štěpení polyproteinu by mohlo být způsobeno aktivací proteasy již v bakteriálních buňkách.

Interakce matrixového proteinu M-PMV s kalmodulinem

Bc. Miroslava Mecová (M2)

Školitel: Ing. Jan Prchal, Ph.D.

Kalmodulin je malý, všudypřítomný, vysoce konzervovaný protein, který se podílí na regulaci základních buněčných procesů u všech eukaryot. Bylo prokázáno, že kalmodulin interaguje s polyproteinem Gag, strukturní komponentou retroviru HIV-1, během pozdní fáze jeho životního cyklu v infikované buňce, a to skrze N-terminálně myristoylovaný matrixový protein myr(+) MA. Interakce kalmodulinu s Gag má za následek expozici kyseliny myristové matrixového proteinu a následný transport Gag k membráně a asociaci s ní, tedy klíčové kroky v životním cyklu retroviru HIV-1. Předmětem práce je výzkum interakce kalmodulinu s matrixovým proteinem Mason-Pfizerova opičího viru M-PMV. Během své bakalářské práce jsem prokázala, že M-PMV MA s kalmodulinem interaguje, a nyní se snažím určit strukturu jejich komplexu. Rekombinantní kalmodulin a dusíkem značený matrixový protein byly připraveny kultivací transformovaných buněk *Escherichia coli* BL21. Pomocí termoforézy byla ověřena interakce. MA jsme titrovali kalmodulinem a pro jednotlivé vzorky byla naměřena ^1H ^{15}N HSQC spektra. Sledováním změn chemických posunů HN skupin byly identifikovány aminokyseliny interakčního rozhraní na MA. Dalším krokem bude určení aminokyselin interakčního rozhraní na kalmodulinu.



Interakce integrasy Mason-Pfizerova opičího viru se strukturními proteiny virové částice

Bc. Henrietta Ottová (M2)

Školitel: Ing. Jan Prchal, Ph.D.

Retroviry jsou živočišné viry, jež jsou příčinou nejen lidských onemocnění. Kvůli léčbě je proto zásadní porozumět jejich životnímu cyklu. Jedním ze zásadních kroků jejich životního cyklu je začlenění retrovirového genomu do genomu hostitele. Tento krok zajišťuje enzym integrasa. Poslední výzkumy ukazují, oproti dřívějším hypotézám, že do jádra kromě preintegračního komplexu, jehož součástí je integrasa, vstupuje i kapsidový protein. Náš výzkum se proto zabývá interakcemi integrasy Masonova-Pfizerova opičího viru (M-PMV), jakožto modelového retroviru, se strukturními proteiny M-PMV, konkrétně kapsidovým a matrixovým proteinem. Tyto interakce jsou studovány pomocí termoforézy, princip této metody je založen na pohybu molekul v teplotním gradientu. Dle dosavadních výsledků lze předpokládat, že integrasa M-PMV interaguje jak s kapsidovým, tak s matrixovým proteinem M-PMV. Kromě toho je studován i vliv nukleových kyselin na tyto interakce, který se zatím nejeví jako podstatný. Výsledky měření pomocí termoforézy se v budoucnu pokusíme ověřit i pomocí dalších metod, např. fluorescenční anizotropie.

Příprava magneticky naváděných virům podobných částic a ověření jejich funkčnosti

Bc. Aneta Pagáčová (M2)

Školitel: prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

Virům podobné částice (VLPs) jsou proteinové nanostruktury složené z virových strukturních proteinů, které ale postrádají virový genom a katalytické proteiny potřebné k replikaci viru. Tím jsou schopné napodobit některé vlastnosti virů jako spontánní skládání do vysoce organizovaných struktur, interakce s nukleovou kyselinou a proteiny nebo schopnost průniku do buněk. Protože ale neobsahují virový genom, nejsou infekční. Díky všem těmto vlastnostem mají VLPs velký potenciál v cílené dopravě molekul do tkání. V posledních letech dochází k velkému rozvoji oblasti biomedicíny zabývající se cílenou dopravou léčiv zejména při nádorových onemocněních, což má za následek omezování negativních vedlejších účinků plynoucích z protinádorové léčby. Cílem této práce je příprava VLPs obsahujících magnetické kovy, které by bylo možné magneticky navádět do cílových buněk, a ověření jejich funkčnosti. K přípravě VLPs je použit fúzní protein Mason-Pfizerova opičího viru tvořený kapsidovou doménou bez N-terminálního prolinu a nukleokapsidovou doménou obsahující ve své struktuře dva motivy zinkových prstů. Tvorba VLPs s různými magnetickými kovy byla ověřena pomocí transmisní elektronové mikroskopie. Navádění VLPs bylo testováno v magnetickém poli.

Mechanismus reaktivace latentního HIV-1 pomocí hem arginátu

Bc. Michal Sončík (M2)

Školitel: Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

HIV-1, virus lidské imunodeficiency, kterému podlehnou ročně více než 2 miliony lidí se stále úspěšně vyhýbá imunitní odpovědi. Akutní infekci HIV-1 lze zmírnit pomocí kombinované antivirové léčby, která však nedokáže úplně eliminovat HIV-1 kvůli latentně infikovaným buňkám, které nejsou rozpoznávány imunitním systémem ani antiretrovirovými. Jednou z možností odstranění latentních buněk je reaktivace HIV-1 proviru a následná eliminace latentně infikovaných buněk. Hem arginát obsahuje lidský hemin a používá se na léčbu akutní porfyrie. Bylo známo, že hemin samotný může zmírnit infekci HIV-1 in vitro. V naší laboratoři bylo ukázáno, že hem arginát podobně jako hemin inhibuje reverzní transkripci HIV-1 a navíc zesiluje PMA stimulovanou reaktivaci proviru HIV-1 v ACH-2, klonech Jurkat a v periferních mononukleárech (PBMC's). Působí jako latenci revertující agens (LRA) a spolu s PMA, také jako stimulátor exprese HO-1. Cílem výzkumu je studovat vliv vybraných redox-senzitivních faktorů, jejichž funkce může být regulována hemem, na reaktivaci latentního HIV-1 a charakterizace nově připravené T-lymfocytární linie odvozené od A2 klonu Jurkat obsahujícího latentní HIV-1 „minivirus“, které byly stabilně transfekovány vektory exprimujícími jednotlivé faktory.

Ústav sacharidů a cereálií (321)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Roman Bleha, Ph.D.

SEZNAM SEKČÍ

1. [Sacharidy a cereálie - chemie a technologie](#)

Sacharidy a cereálie - chemie a technologie

MÍSTO: B40

KOMISE

doc. Ing. Marcela Sluková, Ph.D. (předseda)

Ing. Pavel Skřivan, CSc.

doc. Mgr. Andrej Sinica, Ph.D.

prof. Ing. Zdeněk Bubník, CSc.

doc. Ing. Evžen Šárka, CSc.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

[Bc. Lucie Gebrtová](#) (M2, doc. Ing. Marcela Sluková, Ph.D.)

Nutriční význam cizrny a její technologické zpracování

[Bc. Kristýna Panušková](#) (M2, Ing. Roman Bleha, Ph.D.)

Vliv přídavku medicínálních hub na senzorické vlastnosti bezlepkového chleba a slaných sušenek

[Bc. Barbora Pažoutová](#) (M2, prof. Ing. Jana Čopíková, CSc.)

Vliv délky fermentace kakaových bobů na antioxidační aktivitu a barvu kakaových hmot

[Bc. Kamila Révayová](#) (M2, Ing. Roman Bleha, Ph.D.)

Vysokotlaká kapalinová extrakce složek kořene Eleuterokoku ostnitého - vliv podmínek na složení a antioxidační aktivitu extraktu

[Bc. Daniel Růžička](#) (M1, Ing. Svatopluk Henke, Ph.D.)

Chromatografie SMB pro izolaci mannitolu z vybraných produktů fermentace a extraktů

[Alžběta Švingerová](#) (M2, doc. Ing. Marcela Sluková, Ph.D.)

Sušenky s přídavkem luštěnin

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - SACHARIDY A CEREÁLIE - CHEMIE A TECHNOLOGIE



NICOLET CZ
MOLECULAR SPECTROSCOPY



HELAGO[®] CZ

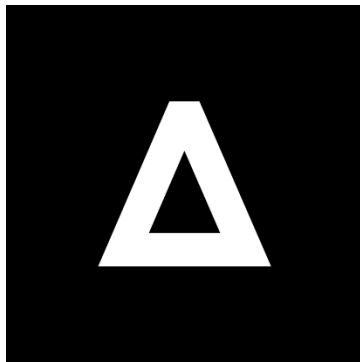


SHIMADZU

Excellence in Science

AAK

Melvia↗



P-LAB



La Lorraine
BAKERY GROUP

Nutriční význam cizrny a její technologické zpracování

Bc. Lucie Gebrtová (M2)

Školitel: doc. Ing. Marcela Sluková, Ph.D.

Cizrna (*Cicer*) je jednou ze tří nejstarších domestikovaných luštěnin. V poslední době se cizrně věnuje zvýšená pozornost nejen díky nutričnímu složení a pozitivnímu působení na lidský organismus (proteiny, vláknina, bioaktivní látky, možnost snížení glykemického indexu potravy, prevence rizika civilizačních onemocnění), ale zejména díky možnosti různých typů zpracování semen, příjemného vzhledu a neutrální chuti během technologické úpravy. Významnou složkou semen cizrny jsou neškrobové polysacharidy, složky vlákniny, stejně jako některé oligosacharidy. Možnosti úpravy cizrny spočívají v máčení, klíčení semene, nebo hydrotermické úpravě. Semena mohou být dezintegrována do podoby krupice nebo mouky a využita pro další účely (příprava chleba a pečiva, anebo extrudovaných výrobků). V rámci experimentu byla semena cizrny upravena hydrotermicky. Jedná se o kombinaci postupů máčení a temperace při určité teplotě a času, kdy dochází k řadě fyzikálně-chemických a biochemických změn v semenu cizrny, což se projeví na nutriční i senzorické kvalitě připravené zápary. U zápary byla hodnocena změna barvy a textury (konzistence a viskozita zápary). Tímto experimentem byl vytvořen základ pro sledování změn nutričně a technologicky významných složek cizrnové zápary.

Vliv přidavku medicinálních hub na senzorické vlastnosti bezlepkového chleba a slaných sušenek

Bc. Kristýna Panušková (M2)

Školitel: Ing. Roman Bleha, Ph.D.

Houby jsou stále více ceněnou potravinou, zejména kvůli jejich nutričnímu složení a pozitivním biologickým účinkům. Obsažené bioaktivní sloučeniny se uplatňují v prevenci celé řady onemocnění, jako je diabetes, hypercholesterolemie nebo nádorová onemocnění a mají antioxidační, neuroprotektivní nebo imunomodulační účinky. K těmto sloučeninám patří polysacharidy (β -glukany), glykoproteiny a látky ze skupiny sekundárních metabolitů. V plodnicích hub je vysoký obsah zejména β -glukanů, které mají imunomodulační účinky. Jednou z medicinálních hub, ve které jsou obsaženy, je *Pleurotus ostreatus*. Cílem této práce bylo zjistit základní složení homogenizovaných plodnic hub *Pleurotus ostreatus* kmen *spopo*. Byla provedena elementární organická analýza, stanoven obsah vody, lipidů, proteinů, popela a glukánů pomocí gravimetrických, enzymových a extrakčních metod. Homogenizované plodnice byly poté přidány do receptur bezlepkových pekařských výrobků, konkrétně do chleba a slaných sušenek typu krekrů. Oba typy výrobků byly senzoricky hodnoceny podle předpřipraveného dotazníku a porovnány se standardním výrobkem.

Vliv délky fermentace kakaových bobů na antioxidační aktivitu a barvu kakaových hmot

Bc. Barbora Pažoutová (M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Čopíková, CSc.

Kakaové boby jsou hlavní surovinou používanou k výrobě čokolády. Obsahují složky, například methylxanthiny a fenolické sloučeniny, které mohou mít příznivý vliv na zdravotní stav jedince. Hlavními faktory při výrobě čokolády přispívající k jejímu výslednému aroma a chuti jsou druh kakaovníku, pěstování, sklizeň, průběh fermentace a sušení kakaových bobů. Zejména fermentace kakaových bobů je důležitý proces, při kterém dochází k velmi významným změnám kakaového bobu. V průběhu fermentace dochází k velmi složitým biochemickým procesům, které jsou vyvolané mikroorganismy a vlastními enzymy. Díky oxidaci dochází ke změně složení fenolických barviv, která je doprovázena barevnou změnou z tmavě růžové na hnědou barvu. Také dochází k poklesu obsahu fenolických sloučenin a methylxanthinů (kofein, theobromin), což vede k poklesu hořké a svíravé chuti kakaových bobů. Vznikají prekursorů čokoládové vůně a chuti. Tato práce se bude zabývat analýzou 10 vzorků kakaových bobů s různou délkou fermentace (1 až 10 dní) a bude posouzen vliv délky fermentace na barvu kakaových hmot a na hodnotu antioxidační aktivity.

Vysokotlaká kapalinová extrakce složek kořene Eleuterokoku ostnitého - vliv podmínek na složení a antioxidační aktivitu extraktu

Bc. Kamila Révayová (M2)

Školitel: Ing. Roman Bleha, Ph.D.

Tato práce se zabývá metodami pro stanovení obsahu celkových fenolických látek, flavonoidů a antioxidační aktivity v rostlinných extraktech z Eleuterokoku ostnitého. Flavonoidy jsou skupina přírodních látek s proměnlivou fenolickou strukturou a jsou známé svými blahodárnými účinky na zdraví. Extrakty pro mou práci jsou získávány převážně pomocí PLE (Pressurized Liquid Extraction) a Soxhletovy metody. Obsah flavonoidů lze stanovit spektrofotometrickými (UV/VIS spektrofotometrie) či chromatografickými metodami (TLC, HPLC, GC). Pro tuto práci je obsah všech látek zjišťován spektrofotometricky UV/VIS spektrofotometrem, kdy jsou naměřené výsledky porovnávány se standardy. Ke zjištění obsahu fenolických látek je využíváno Folin-Ciocalteu metody a antioxidační aktivita extraktů se zjišťuje především pomocí metody DPPH. Jedná se o kolorimetrické metody. Cílem této práce je najít optimální podmínky extrakce tak, aby výtěžky fenolických látek (hl. flavonoidů) byly co nejvyšší a s tím zároveň i antioxidační aktivita. Je kladen důraz na podmínky extrakcí – na teplotu, dobu zdržení a také druh rozpouštědla.

Chromatografie SMB pro izolaci mannitolu z vybraných produktů fermentace a extraktů

Bc. Daniel Růžička (M1)

Školitel: Ing. Svatopluk Henke, Ph.D.

Současná průmyslová výroba mannitolu vysokotlakou hydrogenací cukerného substrátu, zahrnující také krystalizaci, je nejen energeticky náročná, ale také poskytuje nízký výtěžek. Perspektivní alternativa ke konvenční výrobě může být využití superkritických kapalin k extrakci mannitolu z přírodních zdrojů. Z extraktu je možné izolovat mannitol pomocí preparativní chromatografické separace v diskontinuálním či kontinuálním zapojení. Kontinuální chromatografie se od diskontinuální chromatografie liší svým kontinuálním přívodem nátoku. Je také dosaženo vyšší separační účinnosti díky efektivněji využitě kapacitě sorbentu. Náplní experimentů bylo provedení diskontinuální separace mannitolu z roztoku, který svým složením modeloval extrakt sacharidů z řapíků celeru. Separace probíhaly na dvou kolonách odlišné geometrie se stejným silně bazickým aniontově-výměnným sorbentem Dowex Monosphere 550A (Dow, USA) za různých experimentálních podmínek. Získané frakce z jednotlivých diskontinuálních separací byly analyzovány HPCEC/RI. Na základě dat z diskontinuálních experimentů byla provedena pomocí počítačové simulace v prostředí Aspen Chromatography™ kontinuální separace s výsledným obsahem mannitolu v sušině rafinátu 99,1 %, z čehož plyne vhodnost procesu pro potenciální průmyslové využití.

Sušenky s přídavkem luštěnin

Alžběta Švingerová (M2)

Školitel: doc. Ing. Marcela Sluková, Ph.D.

Sušenky patří do skupiny trvanlivého pečiva a v současnosti jsou celosvětově konzumovány ve stále se zvyšujícím množství. Základní složkou receptury běžných sušenek je pečivářenská světlá pšeničná mouka, která vykazuje nízkou nutriční hodnotu a má vysoký glykemický index. Z tohoto důvodu je cílem vývoje a výzkumu zvýšit nutriční hodnotu sušenek. Konkrétně se jednalo o přídavek luštěninové mouky do sušenkového těsta. Byly navrženy receptury na výrobu sušenek s přídavkem buď hrachové či cizrnové mouky. Dle výsledků získaných z literatury přídavek luštěnin zvyšuje obsah bílkovin a vlákniny v sušenkách a celkově zvyšuje jejich nutriční hodnotu. Nejlépe byly hodnoceny sušenky na bázi směsi pšeničné a hrachové mouky (10% přídavek hrachové mouky). S vyšším přídavkem hrachové mouky se však výrazně zhoršila chuť a vůně a celková přijatelnost sušenek byla nižší. Na základě získaných poznatků bych se v dalších výzkumech zaměřovala na senzorickou jakost sušenek zejména z hrachové mouky. Zkoušela bych různé poměry a směsi luštěninových mouk, různá ochucovadla, koření či kandované ovoce. Přídavek by však neměl negativně ovlivnit nutriční hodnotu finální sušenky.

Ústav mléka, tuků a kosmetiky (322)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

SEZNAM SEKCÍ

1. [Ústav mléka, tuků a kosmetiky](#)

Ústav mléka, tuků a kosmetiky

MÍSTO: B07

KOMISE

doc. Ing. Jiří Štětina, CSc. (předseda)

doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Maksym Biehlitse](#) (M2, doc. Ing. Ladislav Čurda, CSc.)

Využití betagalaktosidasy pro tvorbu galaktooligosacharidů a jejich aplikace ve fermentovaných mléčných výrobcích

09:30 [Bc. Kateřina Dlouhá](#) (M2, Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.)

Oleogely na bázi strukturantů obsahujících hydroxylovou skupinu

10:00 [Bc. Tereza Dudková](#) (M2, Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.)

Příprava a vlastnosti strukturovaných triacylglycerolů pro dětskou výživu

10:30 [Bc. Simona Dvořáková](#) (M2, doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.)

Metody pro stanovení penetrace sloučenin do pokožky

11:00 [Bc. Jan Pištěk](#) (M2, doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.)

Charakterizace bakterií mléčného kvašení s produkcí exopolysacharidů.

11:30 [Bc. Adéla Ramešová](#) (M2, doc. Ing. Jan Kyselka, Ph.D.)

Vznik procesních kontaminantů z fenolových kyselin a jejich derivátů v potravinách

12:00 [Bc. Viktorie Stárková](#) (M2, doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.)

Stanovení transdermální difuze esterů kyseliny olejové

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - ÚSTAV MLÉKA, TUKŮ A KOSMETIKY



Využití betagalaktosidasy pro tvorbu galaktooligosacharidů a jejich aplikace ve fermentovaných mléčných výrobcích

Bc. Maksym Biehlitse (M2)

Školitel: doc. Ing. Ladislav Čurda, CSc.

V současném světě se vyvíjí trend konzumace potravin bohatých na prebiotika. Prebiotika jsou sacharidy podporující růst prospěšné mikroflóry v lidském trávicím traktu. Jedním ze zástupců prebiotik jsou galaktooligosacharidy. Termínem galaktooligosacharidy (GOS) se nazývají oligosacharidy obsahující řetězec galaktosových jednotek spojených β -vazbou s koncovou glukosovou jednotkou. Stupeň polymerace GOS se vyskytuje v rozmezí od 2 do 8 monomerních jednotek v závislosti hlavně na typu použitého enzymu a účinnosti konverze laktosy. GOS jsou získávány z laktosy působením mikrobiálních β -galaktosidas. Tato práce je zaměřena na přípravu galaktooligosacharidů prostřednictvím transgalaktosylační aktivity enzymu β -galaktosidasy. Pro provedení této reakce byly použity komerčně dostupné enzymy: Nurica, Bonlacta, Saphera. Cílem práce byl výběr nejvhodnějšího enzymu s největším stupněm konverze laktosy na GOS a optimálních podmínek provedení reakce pro maximální výtěžek GOS. Použitým substrátem byla směs sušeného odstředěného mléka a sušené syrovátky s vodou. Průběh reakce byl sledován pomocí kapalinové chromatografie. Do budoucna je naplánované použití získaných GOS pro výrobu fermentovaných výrobků obohatených GOS

Oleogely na bázi strukturantů obsahujících hydroxylovou skupinu

Bc. Kateřina Dlouhá (M2)

Školitel: Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.

V posledních desetiletích byly zkoumány alternativní způsoby, kterými lze v potravinách, kosmetických a farmaceutických přípravcích nahradit nasycené mastné kyseliny nenasycenými se zachováním požadovaných technologických a organoleptických vlastností. Jednou z možností je zvolení vhodného strukturantu, který dokáže zadržet kapalný olej obsahující nenasycené mastné kyseliny ve své trojrozměrné síti, a společně vytvoří gelovitou strukturu. Existuje více typů strukturantů s různými mechanismy tvorby prostorové sítě a gelu. Jedním z nejúčinnějších strukturantů je kyselina 12-hydroxystearová (12-HSA), která tvoří helikální vlákna a je schopna tvorby gelu při velmi nízkých koncentracích. Tato práce byla zaměřena na syntézu strukturantů s obsahem hydroxylových skupin. Výchozími látkami byly *cis*-9-oktadecen-1-ol, jojobový olej a monoacylglycerol, do kterých byla zavedena hydroxylová skupina pomocí hydroboračně-oxidační reakce, a dále hydrogenovaný ricinový olej, který byl rozložen na mastné kyseliny. Byl posouzen vliv zavedení hydroxylové skupiny na vlastnosti krystalů strukturantů a vytvořených gelů v porovnání s kyselinou 12-HSA. Nejúčinnějším strukturantem srovnatelným s vlastnostmi 12-HSA při tvorbě gelu byly krystaly mastných kyselin hydrogenovaného ricinového oleje.

Příprava a vlastnosti strukturovaných triacylglycerolů pro dětskou výživu

Bc. Tereza Dudková (M2)

Školitel: Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.

Tuk mateřského mléka je specifický jak obsahem jednotlivých mastných kyselin (MK), tak i jejich umístěním na molekule glycerolu v triacylglycerolech (TAG). Mateřské mléko obsahuje primárně kyselinu olejovou a kyselinu palmitovou, je ale unikátní vysokým podílem palmitové kyseliny v pozici *sn*-2 TAG. Komerčně vyráběné strukturní tuky, které imitují složení tuku mateřského mléka, jsou syntetizovány různými modifikačními reakcemi – acidolýzou, interesterifikací a alkoholýzou – za pomoci imobilizovaných *sn*-1,3 specifických mikrobiálních enzymů. Cílem této práce bylo analyzovat palm stearin a tuk z biomasy kvasinek z hlediska složení MK, optimalizovat analýzu MK na *sn*-2 pozici TAG následně ji aplikovat na tyto tuky.

Metody pro stanovení penetrace sloučenin do pokožky

Bc. Simona Dvořáková (M2)

Školitel: doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

Penetrací látek do pokožky se zabývá jak farmaceutický, tak kosmetický průmysl. Avšak odborné publikace o těchto studiích chybí. Existují dvě nejčastější metody, kterými se penetrace látek stanovuje, a to metoda stripování a metoda s využitím Franzových difuzních cel. Obě tyto metody se navzájem doplňují, a proto je výhodné je provádět souběžně. K testování látek se v našich podmínkách, pro svou největší podobnost s lidskou kůží, využívá prasečí kůže z ušního boltce, která musí být předem upravena. Nejdůležitější vrstvou celé kůže je nejsvrchnější vrstva *stratum corneum*, která má na penetraci látek největší vliv. Hloubku penetrace látky ovlivňují její chemické i fyzikální vlastnosti, ale také stav pokožky. Při vlastním experimentu je důležité pro závěrečnou analýzu na GC-FID provést přečištění vzorku. U metody stripování se provádí především extrakcí vzorku ze stripovací pásky do rozpouštědla, následným odpařením, přečištěním na SPE kolonkách, odpařením dusíkem do sucha, a nakonec rozpuštěním pro samotnou analýzu, po které již následuje závěrečná kvantifikace. U metody s využitím Franzových cel se odebraná receptorová tekutina extrahuje do rozpouštědla, filtruje, vakuově odpařuje, opětovně rozpustí, odpaří dusíkem do sucha, a poté se pokračuje stejně jako u metody stripování.

Charakterizace bakterií mléčného kvašení s produkcí exopolysacharidů.

Bc. Jan Pištěk (M2)

Školitel: doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.

Exopolysacharidy tvořící bakterie mléčného kvašení, představují zajímavou technologickou perspektivu, z hlediska jejich použití pro zlepšení reologických vlastností mléčných výrobků, přičemž tyto látky mohou působit i jako prebiotika, pro rozvoj jiných prospěšných bakterií. Produkce exopolysacharidů vybraných izolátů bakterií mléčného kvašení, byla testována screeningovými metodami kultivace na MRS agaru, na MRS agaru s přídatkem $40 \text{ g} \times \text{dm}^{-3}$ sacharosy a $40 \text{ g} \times \text{dm}^{-3}$ laktosy. přičemž se do obou směsí přidávala kongo červeň v koncentraci $0,8 \text{ g} \times \text{dm}^{-3}$. Další screeningovou metodou bylo použití mléčného agaru s kongo červení v koncentraci $0,2 \text{ g} \times \text{dm}^{-3}$. Vyhodnocení probíhalo vytahováním vlákna. Kmeny pozitivní na produkci exopolysacharidů byly vyhodnoceny pomocí API fermentačních testů a též MALDI-TOF jako *Lactiplantibacillus plantarum*, *Limosilactobacillus fermentum* a *Lacticaseibacillus paracasei*. Zkoumán byl následně nárůst celkového počtu vybraných kmenů v MRS bujónu a v mléce na začátku, po 6 a 24 hodinách kultivace, včetně stanovení pH po 6 a 24 hodinách. Z probiotických vlastností byly zjišťovány antipatogenní vlastnosti, agarovou difuzní metodou vůči podmíněně patogenním kmenům a hydrofobicita, spojená s povrchovými vlastnostmi, metodou adheze k hexanu.

Vznik procesních kontaminantů z fenolových kyselin a jejich derivátů v potravinách

Bc. Adéla Ramešová (M2)

Školitel: doc. Ing. Jan Kyselka, Ph.D.

Fenolové kyseliny jsou biologicky aktivní látky, strukturně se jedná o deriváty odvozené od kyseliny benzoové a skořicové. Běžně se vyskytují v rostlinných matricích, můžeme je nalézt ve volné a vázané formě jako příslušné estery, amidy a glykosidy. Fenolové kyseliny vykazují antimikrobiální účinky, proto se některé mikroorganismy adaptovaly a vytvořily si schopnost transformovat fenolové kyseliny na méně toxické produkty mikrobiální redukce, dekarboxylace či jejich kombinace. Při těchto reakcích obvykle vznikají významné sensoricky aktivní látky (např. vinylfenoly), současně však mohou vznikat látky potenciálně škodlivé pro člověka. Typickým příkladem je styren, který vzniká dekarboxylací volné kyseliny skořicové. V rámci experimentální práce byla potvrzena dekarboxylace i redukce vybraných fenolových kyselin a kyseliny skořicové kmeny *Limosilactobacillus fermentum* a *Lactiplantibacillus plantarum*. Dále byly syntetizovány vázané deriváty kyselin skořicové a *p*-kumarové, zejména jejich ethylestery, estery s kyselinou jablečnou a vybrané amidy. Tyto sloučeniny budou v rámci diplomové práce použity pro metabolomické experimenty.

Stanovení transdermální difuze esterů kyseliny olejové

Bc. Viktorie Stárková (M2)

Školitel: doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

Kyselina olejová se řadí mezi akceleranty transdermální penetrace, které usnadňují prostup aktivních složek z léčivých a kosmetických přípravků do hlubších vrstev kůže. Tato práce se zabývala schopností transdermální difuze methyl-, ethyl-, propyl- a butyl esterů kyseliny olejové. Jako kožní model pro stanovení difuze byla použita kůže ušních boltců prasat získaná z domácích chovů. Methyl- a ethyl estery kyseliny olejové byly komerčně dostupné, zatímco propyl- a butyl estery kyseliny olejové byly připraveny laboratorně z chloridu kyseliny olejové a příslušného alkoholu (propanolu/butanolu). Pro sledování penetrace esterů kyseliny olejové do jednotlivých vrstev *Stratum corneum* byla použita metoda stripování adhezivní páskou. Další použitou metodou pro sledování difuze byla metoda Franzových difuzních cel, která simuluje proces resorpce látek, tedy jejich průnik přes kůži do krevního řečiště. Vzorky obou těchto metod byly analyzovány pomocí plynové chromatografie s plameno-ionizační detekcí (GC-FID).

Ústav analýzy potravin a výživy (323)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Martina Vlčková

SEZNAM SEKCIÍ

1. [Sekce 1](#)

2. [Sekce 2](#)

3. [Sekce 3](#)

4. [Sekce 4](#)

5. [Sekce 5](#)

SPONZOŘI



Sekce 1

MÍSTO: B159

KOMISE

prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D. (předseda)

Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.

Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Barbora Bílová](#) (M2, Ing. Vojtech Ilko, Ph.D.)

Analýza senzoricky aktivních látek oxidačních produktů tuků pomocí HS-SPME a plynové chromatografie s olfaktometrickou detekcí

09:20 [Bc. Eliška Burianová](#) (M1, Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.)

Hodnocení kvality tukové složky v komerčně zakoupených zeleninových lupíncích

09:40 [Bc. Michaela Freyová](#) (M1, prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.)

Sledování chlorovaných parafínů v potravinách na bázi hmyzu

10:00 [Bc. Anna Gurovičová](#) (M2, Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.)

Sledování perfluoralkylovaných látek v mateřském mléce v rámci biomonitoringu

10:20 [Jiří Hádek](#) (B3, doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D.)

Výskyt mykotoxinů v pivních speciálech

10:40 [Bc. Eliška Havlanová](#) (M2, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Chemická bezpečnost chilli koření

11:00 [Tereza Jablonská](#) (B3, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Hodnocení kvality bylinných čajů na bázi heřmánku pravého (Matricaria chamomilla)

vyhlášení výsledků

Analýza senzoricky aktivních látek oxidačních produktů tuků pomocí HS-SPME a plynové chromatografie s olfaktometrickou detekcí

Bc. Barbora Bílová (M2)

Školitel: Ing. Vojtech Ilko, Ph.D.

Smažení je celosvětově jednou z velmi populárních kulinárních úprav potravin. Kvalita smažené potraviny je závislá na výběru smažícího oleje. Při smažení je velké množství oleje přijato potravinou a olej se stává její významnou součástí. Dochází také k výměně oleje ze syrové potraviny za olej ve smažícím médiu, což vede ke změně ve složení mastných kyselin smaženého produktu. Při smažení je tedy nutné brát ohled i na výživovou hodnotu oleje a zdraví spotřebitelů. Při této úpravě probíhají v oleji tři typy reakcí, a to oxidační, hydrolytické a polymerační. Produkty těchto reakcí jsou žádoucí i nežádoucí senzoricky aktivní látky přispívající ke smaženému aroma, ale také látky s nežádoucím účinkem na zdraví a procesní kontaminanty. Tato práce se zabývá charakterizací smaženého aroma a látek, které přispívají k jeho vývoji. V rámci experimentální části práce byly analyzovány vzorky tepelně namáhaných živočišných tuků (másla, sádla a ghí) a rostlinných olejů (řepkového, slunečnicového a palmového). U těchto olejů a tuků bylo sledováno zastoupení jednotlivých těkavých látek a byl porovnán profil aromatických látek u jednotlivých vzorků. K extrakci těkavých látek ze vzorků byla využita HS-SPME a rovněž simultánní destilace-extrakce s následnou analýzou olfaktometrickým detektorem.

Hodnocení kvality tukové složky v komerčně zakoupených zeleninových lupíncích

Bc. Eliška Burianová (M1)

Školitel: Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.

Na trhu se stále častěji objevují zeleninové lupínky, na které široká společnost pohlíží jako na zdravější alternativu klasických bramborových lupínků. Mnohé studie však poukazují na to, že tomu tak jednoznačně být nemusí. Cílem této práce bylo zhodnotit kvalitu tukové složky komerčně zakoupených zeleninových lupínků. Vzhledem k tomu, že se lupínky prodávají převážně ve směsích, byla provedena nejprve manuální separace jednotlivých druhů zeleniny (batáty, mrkev, řepa, pastinák atd.), které byly posléze podrobeny analýze. Stanoven byl celkový obsah tuku gravimetricky pomocí Soxtec, číslo kyselosti vyjadřující obsah volných mastných kyselin, peroxidové číslo poukazující na stupeň žluknutí a obsah polymerních triacylglycerolů indikující míru tepelného namáhání smažícího oleje.

Sledování chlorovaných parafínů v potravinách na bázi hmyzu

Bc. Michaela Freyová (M1)

Školitel: prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.

Jedlý hmyz se v posledních letech stává čím dál více populárnější potravinou, především díky svým nutričním vlastnostem (levný zdroj bílkovin). S nárůstem konzumace těchto potravin jsou však spojeny i obavy o jejich chemickou bezpečnost. Tato práce se tedy zaměřuje na stanovení halogenovaných organických polutantů, konkrétně chlorovaných parafínů (CP) s krátkým (SCCP) a středním (MCCP) řetězcem v potravinách vyrobených z jedlého hmyzu. Analyzovány byly vzorky potravin z hmyzu (n=17) vyrobené z potměníka moučného nebo cvrčka domácího, které pocházely z různých zemí a byly zpracovány (výrobce) různými způsoby (namletím na mouku, přidavkem koření, uzením a sušením). Vzorky byly extrahovány ethyl-acetátem, CP po přečištění pomocí gelové permeační chromatografie byly analyzovány pomocí plynové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií s negativní chemickou ionizací a analyzátozem doby letu (GC-NCI-TOF-HRMS). Koncentrace chlorovaných parafínů v potravinách z hmyzu se pohybovaly v rozmezí <15-1 763 ng/g lipidů (medián 167 ng/g lipidů) pro SCCP a <30-11 820 ng/g lipidů (medián 524 ng/g lipidů) pro MCCP. Největší množství CP pak obsahovaly vzorky ochucené kořením, nejčastěji solí (n=5, medián 95 ng/g lipidů SCCP a 689 ng/g lipidů MCCP).

Sledování perfluoralkylovaných látek v mateřském mléce v rámci biomonitoringu

Bc. Anna Gurovičová (M2)

Školitel: Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.

Per- a polyfluoralkylované sloučeniny (PFAS) jsou látky používané v průmyslu a mnoha spotřebních výrobcích. PFAS jsou řazeny mezi environmentální polutanty a sledovány v rámci tzv. biomonitoringu kvůli svým potenciálně toxickým vlastnostem. Cílem studie bylo analyzovat soubor 164 vzorků mateřského mléka, na základě výsledků odhadnout týdenní příjem (EWI) pro $\Sigma 4\text{PFAS}$ (PFOA, PFNA, PFOS a PFHxS) u kojenců a posoudit, zda může jejich obsah v mateřském mléce pro kojence představovat riziko. Pro stanovení 32 PFAS v mateřském mléce byla použita extrakční metoda QuEChERS s následným přečištěním technikou disperzní extrakce tuhou fází (výtěžnost 87-133 %, opakovatelnost <20 %, limity kvantifikace 0,003-0,015 ng/ml). Extrakty byly analyzovány ultra-účinnou kapalinovou chromatografií s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Nejvíce zastoupenými PFAS ve vzorcích byly PFOA (medián 0,020 ng/ml, 99 % pozitivních vzorků) a PFOS (0,010 ng/ml, 58 %). Stanovené hodnoty $\text{EWI}_{\Sigma 4\text{PFAS}}$ (medián) pro 6měsíčního kojence byly 39,2 ng/kg těl.hm. a pro 1měsíčního 47,1 ng/kg těl.hm. Hazard kvocient (HQ) pro hodnocení rizika byl u 6měsíčního kojence roven 8,9 a u 1měsíčního 10,7. Při těchto hodnotách HQ je expoziční riziko klasifikováno jako střední. Riziko je však vyváženo ostatními benefity spojenými s kojením.

Výskyt mykotoxinů v pivních speciálech

Jiří Hádek (B3)

Školitel: doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D.

Pivo je celosvětově nejkonzumovanější alkoholický nápoj, který je, kromě řady pozitivně působících bioaktivních látek, také častým zdrojem mykotoxinů. Mezi nejčastější zástupce mykotoxinů v pivech patří například deoxynivalenol (DON), další mykotoxiny ze skupiny trichothecenů, ochratoxin A nebo fumonisiny, přičemž nejfrekventovanějším zástupcem mykotoxinů v pivech na bázi ječného sladu je DON a jeho glykosilovaná forma, DON-3-glukosid. Předpoklad trendu výskytu mykotoxinů v pivu se odvíjí mimo jiné od stupňovitosti piva, tedy měl by stoupat s hmotnostním obsahem extraktabilních látek v mladině. Z důvodu ověření takovéto hypotézy bylo v rámci této práce analyzováno 10 vysoko-stupňových pivních speciálů nejen z Česka, ale i z jiných evropských států. Pro srovnání bylo zvoleno 10 piv typu ležák a 10 výčepních piv. Po částečné purifikaci vzorků naředěním do acetonitrilu a zakoncentrování na vakuové odparce byly analyzovány pomocí metody vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostním spektrometrem (UHPLC-MS). Metodou vnějšího standardu pomocí matriční kalibrační řady byla provedena kvantifikace detekovaných mykotoxinů. Pozornost byla zaměřena také na charakteristiku matričních efektů pro různé druhy piv.

Chemická bezpečnost chilli koření

Bc. Eliška Havlanová (M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Chilli koření je celosvětově používané při přípravě pokrmů. Nicméně, jeho kvalita a bezpečnost může být negativně ovlivněna přítomností různých kontaminujících látek (rezidua pesticidů, mykotoxiny) a mikrobiální kontaminací. Rizikovým scénářem může být také falšování (použití toxických barviv). V rámci této práce byla na základě simultánní analýzy reziduí pesticidů a vybraných mykotoxinů posuzována chemická bezpečnost 21 vzorků chilli koření, které pocházely převážně ze zemí třetího světa (Indie, Thajsko, Vietnam, Čína, Malawi a další). Analyzovaný soubor vzorků chilli zahrnoval nejen koření vyprodukované v konvenční zemědělské produkci, ale též výrobky označené logem „Bio“. Pro přípravu vzorků byla použita extrakční metoda QuEChERS. Následné stanovení vybraných skupin kontaminantů bylo provedeno prostřednictvím ultraúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Zjištěné hladiny přítomných reziduí pesticidů a mykotoxinů byly posuzovány z pohledu legislativních předpisů.

*Hodnocení kvality bylinných čajů na bázi heřmánku pravého (*Matricaria chamomilla*)*

Tereza Jablonská (B3)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Díky obsahu různých bioaktivních sloučenin je konzumace bylinných čajů spojena s očekáváním příznivých zdravotních efektů. Heřmánkový čaj se řadí mezi ty nejpopulárnější na trhu. Vedle řady terpenů, flavonoidů a dalších zajímavých sekundárních metabolitů v něm lze za určitých okolností prokázat i přítomnost toxických kontaminantů. K této situaci může dojít zejména v případě, že jsou při sklizni přimíseny i rostliny produkující toxické rostlinné alkaloidy, příkladem můžou být rostliny z čeledí Solanaceae či Asteraceae. Z pohledu zdravotních rizik jsou diskutovány především alkaloidy tropanové a pyrrolizidinové. Evropská komise přijala v posledních letech významná nařízení udávající maximální limity zmíněných látek ve vybraných potravinách. Cílem této práce bylo zhodnotit výskyt těchto toxických sloučenin v souboru vzorků bylinných čajů na bázi heřmánku pravého běžně dostupných na trhu ČR. Celkem bylo sledováno 32 pyrrolizidinových a 16 tropanových alkaloidů pomocí metody ultra-účinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS/MS). U 50 % vzorků byl detekován alespoň jeden cílový analyt a stanovené koncentrace byly porovnány s novými legislativními opatřeními.

Sekce 2

MÍSTO: B 34

KOMISE

prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc. (předseda)

Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.

Ing. Vít Kosek, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Veronika Jeníková](#) (B3, doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D.)

Výskyt mykotoxinů v léčivých přípravcích na bázi ostropestřce mariánského

09:20 [Bc. Jana Jiříčková](#) (M2, prof. Dr. Ing. Richard Koplík)

Stanovení molybdenu v biologických materiálech technikou ICP-MS

09:40 [Bc. Veronika Jurášková](#) (M2, prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.)

Jaké organofosfátové zpomalovače hoření můžeme najít ve výrobcích z plastů?

10:00 [Bc. Veronika Kalinová](#) (M2, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Frakcionace extraktů konopí alternativními postupy

10:20 [Bc. Zuzana Kopecká](#) (M1, Ing. Lucie Drábová, Ph.D.)

Houby jako zdroj vitamínu D

10:40 [Petr Kučera](#) (B3, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Hodnocení rizika expozice psychotropními kanabinoidy při konzumaci konopných čajů

11:00 [Bc. Kateřina Mačurová](#) (M2, doc. Dr. Ing. Zdeňka Panovská)

Senzorický vjem mentolu a jeho izomerů

vyhlášení výsledků

Výskyt mykotoxinů v léčivých přípravcích na bázi *ostropestřce mariánského*

Veronika Jeníková (B3)

Školitel: doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D.

Ostropestřec mariánský (*Silybum marianum*) představuje významný zdroj biologicky aktivních látek (silymarinu) pro výrobu doplňků stravy a registrovaných léčivých přípravků. Konzumace těchto doplňků stravy je však spojována s potenciálním zdravotním rizikem díky přítomnosti mykotoxinů – sekundárních toxických metabolitů mikroskopických vláknitých hub. Tvorba mykotoxinů probíhá již při sklizni a skladování ostropestřce mariánského, a během průmyslové izolace silymarinu jsou mykotoxiny, díky obdobným fyzikálně-chemickým vlastnostem, koextrahovány. Tato práce je zaměřena na výskyt 57 mykotoxinů v pěti různých vzorcích léčivých přípravků v návaznosti na výzkum z předešlých let potvrzující přítomnost širokého spektra mykotoxinů v doplňcích stravy na bázi ostropestřce mariánského. Analyty byly extrahovány modifikovanou metodou QuEChERS a analyzovány pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-HRMS/MS).

Stanovení molybdenu v biologických materiálech technikou ICP-MS

Bc. Jana Jiříčková (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Richard Koplík

Molybden je esenciální prvek a jeho obsah v potravinách se pohybuje od setin mg.kg^{-1} až po jednotky mg.kg^{-1} . Stanovení molybdenu technikou ICP-MS není příliš problematické na rozdíl od časově náročného stanovení atomovou absorpční spektrometrií. ICP-MS umožňuje měřit i velmi nízké koncentrace molybdenu (řádově setiny ng.ml^{-1} ve výsledném roztoku). Výhodou ICP-MS je také široký lineární pracovní rozsah. Molybden má šest stabilních izotopů (^{92}Mo , ^{94}Mo , ^{95}Mo , ^{96}Mo , ^{97}Mo , ^{98}Mo), které lze teoreticky využít pro jeho detekci. Cílem této práce bylo ověřit přesnost stanovení a zjistit, do jaké míry může být stanovení molybdenu ovlivněno spektrálními nebo nespektrálními interferencemi. Přesnost stanovení v biologických matricích jsem ověřovala analýzou CRM (SRM 1515 Apple Leaves, SRM 1577c Bovine Liver a SRM 1568b Rice Flour), ve kterých se obsah molybdenu pohybuje od 0,095 do 3,30 mg.kg^{-1} .

Jaké organofosfátové zpomalovače hoření můžeme najít ve výrobcích z plastů?

Bc. Veronika Jurášková (M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.

Organofosfátové zpomalovače hoření (OPFR) jsou přidávány do pestré škály spotřebitelských produktů za účelem zabránění vzplanutí ošetřeného materiálu či zpomalení rozšíření požáru. Tyto látky se mohou v důsledku recyklace dostat i do dalších výrobků, ve kterých nejsou žádoucí, například do hraček nebo předmětů běžného užití. Cílem této práce bylo rozšíření stávající metody s 15 zástupci OPFR o nových 6 OPFR a stanovení celého spektra látek ve 177 vzorcích hraček, kuchyňských pomůcek a předmětů běžného užití. Tyto vzorky byly poskytnuty neziskovou organizací Arnika a byly zakoupeny na tržní síti několika afrických, asijských a evropských zemí. K izolaci cílových látek byla použita trojnásobná extrakce směsí hexan:dichlormethan (4:1, v/v) podpořená ultrazvukem. Instrumentální analýza OPFR byla provedena ultra-účinnou kapalinovou chromatografií ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií typu trojitý kvadrupól. Celkově bylo ve vzorcích detekováno 20 z 21 OPFR. V nejvyšších koncentracích byly detekovány 3 OPFR, konkrétně trifenyl fosfát (TPhP; 0,001 – 900 mg/kg), BPA-BDPP (bisfenol A-bis(difenyl fosfát); <0,001 – 2 520 mg/kg) a RDP (resorcinol-bis(difenyl fosfát); <0,001-170 mg/kg). Tyto látky byly kvantifikovány ve více než 98 % vzorků.

Frakcionace extraktů konopí alternativními postupy

Bc. Veronika Kalinová (M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Konopí (*Cannabis sativa* L.) je rostlina známá díky širokému spektru biologicky aktivních látek, zejména fytokanabinoidů. Mezi nejznámější patří kanabidiol (CBD), který v současné době nachází celou řadu uplatnění, zejména při výrobě doplňků stravy, a psychotropní Δ^9 -tetrahydrokanabinol (Δ^9 -THC), který je v těchto produktech nežádoucí. Dále se ale v konopí nachází celá řada nekanabinoidních biologicky aktivních látek (terpenů, fenolů a dalších). Z posledních studií vyplývá, že nositelem biologické účinnosti konopí je nejen CBD a Δ^9 -THC, ale celkový „koktejl“ sloučenin. Proto roste zájem o vývoj nových metod pro odstranění nežádoucí psychotropní složky Δ^9 -THC a zároveň zachování co nejširšího spektra sloučenin. Jedním ze způsobů frakcionace těchto látek může být Rychlá odstředivá dělicí chromatografie (FCPC). FCPC rozděluje látky podle jejich afinity k mobilní a stacionární fázi, jenž jsou nemísitelnými kapalinami. V rámci této práce byla aplikována FCPC metoda pro separaci fytokanabinoidů z extraktu s vysokým obsahem CBD. Pro detekci a kvantifikaci 40 fytokanabinoidů a cílený screening dalších biologicky aktivních látek byla využita metoda UHPLC-HRMS. Kromě CBD a Δ^9 -THC byla pozornost zaměřena na izolaci méně zastoupených fytokanabinoidů s možným farmakologickým potenciálem.

Houby jako zdroj vitaminu D

Bc. Zuzana Kopecká (M1)

Školitel: Ing. Lucie Drábová, Ph.D.

Vitamin D je lipofilní vitamin, který zajišťuje správnou mineralizaci kostí a funkci imunitního systému. Vedle endogenní syntézy v pokožce je vitamin D přijímán také z potravy. Většina známých zdrojů vitaminu D je živočišného původu (rybí tuk, játra, vaječný žloutek atd.). Potenciálním zdrojem vitaminu D pro osoby vyhýbající se živočišným výrobkům se staly houby, které obsahují ergosterol, z něhož působením UV-B záření vzniká vitamin D₂. Cílem práce bylo vyšetřit soubor 37 vzorků hub z tržní sítě na obsah vitaminu D₂ a spočítat jeho množství v pokrmích z ozářených žampionů. V neozářených houbách byly nalezeny velmi nízké koncentrace vitaminu D₂. Výjimkou byly pouze lesní houby, u nichž bylo zjištěno až 11 µg/100 g. Pro UV ozářené žampiony byla zjištěna koncentrace 13,74 µg/100 g. Pro výpočet množství přijímaného vitaminu D z pokrmů připravených z UV ozářených hub byl nejprve testován vliv kulinárních úprav na obsah vitaminu D₂. K nejvyšším ztrátám (více jak 60 %) docházelo v průběhu vaření hub v okyselené vodě (pH=3). Nejšetrnější úpravou bylo naopak vaření ve vodě o neutrálním pH, kdy ztráty vitaminu D dosahovaly pouze 9 %. Během pečení docházelo ke ztrátám vitaminu D₂ okolo 40 %.

Hodnocení rizika expozice psychotropními kanabinoidy při konzumaci konopných čajů

Petr Kučera (B3)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Konopí je jedna z nejstarších léčivých rostlin, její užívání se datuje od doby starověkého Egypta. Ačkoliv se jedná o známou komoditu a byla podrobena množství kritických studií, stále se objevují nově izolované fytkanabinoidy a další biologicky aktivní látky. V posledních pěti letech výrazně vzrostla obliba konopí a konopných produktů u široké veřejnosti. Jedním z poměrně nových trendů jsou konopné “čaje”, sušená herba určená k přípravě vodných čajových nálevů. Z předchozí studie prováděné na Ústavu analýzy potravin a výživy vyplývá, že při nejkritičtějších podmínkách varu 1g herby po dobu 10 minut, za intenzivního míchání, došlo k přestupu méně než 3 % psychotropního Δ^9 -THC z herby do vodného výluhu. V rámci této práce byl postup upraven, na základě doporučení výrobce, za účelem simulace přípravy “čaje” konzumentem, a výsledky byly srovnány s předchozí studií. Dále byly provedeny pokusy s přidavkem konopného oleje podle doporučení výrobce. Bylo zhodnoceno riziko překročení Akutní referenční dávky stanovené EFSA (1 mg /kg tělesné váhy/den) a výsledky byly porovnány s dostupnou legislativou. V rámci novely zákona č 167/1988 Sb., smí od 1. ledna 2022, obsahovat konopná herba až 1% podílu Δ^9 -THC.

Senzorický vjem mentolu a jeho izomerů

Bc. Kateřina Mačurová (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Zdeňka Panovská

Chladivý vjem, který je spojován s osvěžením či svěžestí, je velmi žádoucím vjemem pro mnoho odvětví. Široké uplatnění mají látky vyvolávající chladivý vjem především ve žvýkačkách, bonbónech, ústních vodách či lécích na nachlazení. Je známo mnoho látek s chladivým účinkem, a to jak přírodních, tak i syntetických. Avšak doposud nejvýznamnější látkou je mentol. Tento cyklický terpenový alkohol má tři chirální centra a existuje tedy jeho 8 stereoizomerů. Všechny tyto stereoizomery vyvolávají chladivý vjem prostřednictvím trojklaného nervu citlivého na chlad aktivací iontového kanálu TRPM8. Přestože tento iontový kanál aktivuje všech 8 stereoizomerů, výsledný chladivý vjem je pro každý stereoizomer odlišný. Nejsilnější chladivý účinek vyvolává izomer s názvem (-)-mentol. V rámci této práce byly senzoricky hodnoceny roztoky dvou isomerů - (+)-mentolu a (-)-mentolu. Pro oba izomery byla zkoušena nejnižší koncentrace, která by měla být dle literatury hodnotiteli detekována. Pro (-)-mentol pak byla hledána nejnižší koncentrace, která je spotřebiteli opravdu detekována, a také nejnižší koncentrace, při které už je mentol hodnotiteli rozpoznán. Dále byla pro (-)-mentol hodnocena změna vnímání chladivé chuti při změně matrice. Provedena byla také pořadová zkouška a čichová zkouška.

Sekce 3

MÍSTO: B 36

KOMISE

prof. Ing. Vladimír Kocourek, CSc. (předseda)

doc. Dr. Ing. Karel Cejpek

Ing. Lucie Drábová, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Kateřina Malá](#) (M2, doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D.)

Glykosidové konjugáty HT2 a T2 toxinu – enzymatická syntéza a charakteristika produktů pomocí hmotnostní spektrometrie

09:20 [Bc. Chi Mai Nguyenová](#) (M2, prof. Dr. Ing. Jan Poustka)

Využití infračervené spektrometrie pro sledování změny rostlinných olejů při skladování

09:40 [Bc. Hana Pírová](#) (M2, Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.)

Vakuové smažení – alternativní technologie pro přípravu zeleninových lupínků

10:00 [Bc. Michaela Pitrová](#) (M2, doc. Dr. Ing. Věra Schulzová)

Sledování fenolických látek v zelenině a jejich změny při zpracování

10:20 [Bc. Ondřej Pospíšil](#) (M1, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Charakterizace rostlinných olejů

10:40 [Bc. Linda Průšová](#) (M1, Ing. Vít Kosek, Ph.D.)

Sledování toxických hydroxyanthracenů v potravinách a doplňcích stravy obsahujících aloe

11:00 [Bc. Monika Pšenáková](#) (M1, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

*Ópiové alkaloidy vo výrobkoch na báze semien maku siateho (*Papaver somniferum*)*

vyhlášení výsledků

Glykosidové konjugáty HT2 a T2 toxinu – enzymatická syntéza a charakteristika produktů pomocí hmotnostní spektrometrie

Bc. Kateřina Malá (M2)

Školitel: doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D.

T-2 toxin (T2) a HT-2 toxin (HT2) jsou často se vyskytující mykotoxiny, tedy sekundární toxické metabolity mikroskopických vláknitých hub. Jejich konjugáty produkované metabolismem rostlin za účelem detoxifikace představují nové potenciální kontaminanty. Ve většině případů se jedná o konjugáty s glukosou za vzniku glykosylovaných forem s vyšší polaritou. Údaje o toxicitě těchto glykosylovaných forem jsou zatím omezené, nicméně existují důkazy o jejich hydrolýze na původní formy v trávicím traktu. Je proto nutné jejich přítomnost uvažovat při hodnocení celkového rizika. Analýza konjugovaných forem T2 a HT2 je ale oproti volným formám podstatně náročnější kvůli absenci analytických standardů. Cílem této práce je optimalizace procesu enzymové syntézy glykosylovaných forem HT2 a T2 s jejich následnou charakterizací pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií. Doposud byly provedeny experimenty dokazující přítomnost HT2- β -glukosidu po inkubaci substrátů isoquercetinu a nitrofenylglukopyranosidu (donory glukosy) s chemicky čistým HT2 (akceptor glukosy) a roztokem rutinoidázy. Výsledné produkty mají potenciál sloužit jako analytické standardy, které usnadní problematickou analýzu konjugovaných forem HT2 a T2.

Využití infračervené spektrometrie pro sledování změny rostlinných olejů při skladování

Bc. Chi Mai Nguyenová (M2)

Školitel: prof. Dr. Ing. Jan Poustka

Rostlinné oleje se řadí mezi tuky, které spolu s proteiny a sacharidy patří mezi makronutrienty. Oproti živočišným tukům obsahují nenasycené mastné kyseliny a některé z nich jsou pro člověka esenciální. Na trhu lze nalézt různé druhy rostlinných olejů, které se liší zastoupením a obsahem jednotlivých nenasycených mastných kyselin. Při skladování v domácích podmínkách může docházet k oxidaci oleje za vzniku hydroperoxidů, které mohou být zdravotně závadné. Na změnách rostlinných olejů se podílejí různé faktory, např. teplota, světlo, vzdušný kyslík i vlhkost. Cílem této práce je sledování změn různých druhů olejů při skladování v domácích podmínkách, tj. ve tmě a na světle při laboratorní teplotě. Vzorky olejů byly ponechány po dobu 6 měsíců ve tmě a na světle. Změny byly sledovány pomocí měření zeslabeného totálního odrazu infračerveného záření ve střední oblasti (ATR-FTIR spektrometrie). Protože ve spektrech nejsou vidět výrazné změny, které nastaly během skladování, bylo potřeba dále aplikovat chemometrické metody. Díky nim bylo možné roztrždit vzorky podle doby a způsobu skladování.

Vakuové smažení – alternativní technologie pro přípravu zeleninových lupínků

Bc. Hana Pírová (M2)

Školitel: Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.

Akrylamid, klasifikovaný IARC jako pravděpodobný lidský karcinogen skupiny 2A, je dobře známý procesní kontaminant vznikající v Maillardově reakci při tepelném zpracování potravin nad 120 °C. V poslední době je pozornost věnována zeleninovým lupínkům, prezentovaná výrobci jako zdravější verze tradičních bramborových lupínků. Nicméně, vzhledem k významně vyššímu obsahu redukujících cukrů (jedním z prekurzorů akrylamidu), v nich vzniká během smažení i několikanásobně vyšší obsah akrylamidu. Cílem této práce bylo proto prezentovat potenciál vakuového smažení, jakožto alternativní technologie ke konvenčnímu smažení, kde díky nízkému tlaku (10 kPa) je možné lupínky usmažit při nižších teplotách. Vybrány byly sladké brambory (batáty), které disponují vysokým obsahem redukujících cukrů a jsou hojně zastoupeny v komerčně dostupných zeleninových směsích. Pro vakuové smažení byla zvolena teplota 120 °C a doba 4, 5 a 6 min. Při konvenčním smažení byla použita teplota 165 °C a doba 1,5; 1,75 a 2 min. V lupíncích byl stanoven obsah akrylamidu a vody (parametr určující mikrobiální údržnost lupínků). Dále byly lupínky podrobeny metabolickému fingerprintingu a senzorickému hodnocení.

Sledování fenolických látek v zelenině a jejich změny při zpracování

Bc. Michaela Pitrová (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

Zelenina je bohatým zdrojem fenolických látek. Tyto sloučeniny jsou sekundárními metabolity rostlin a jsou známy především pro své antioxidační účinky, mají ale také mnoho dalších pozitivních efektů na lidské zdraví. V rámci této práce byl proveden screening přítomnosti fenolických látek v různých druzích zeleniny (batáty, mrkev, rajčata) pomocí techniky UHPLC-MS a také byly sledovány jejich změny při zpracování těchto potravin jako je vaření, konvenční a vakuové smažení či lyofilizace. Dále byl spektrofotometricky stanoven celkový obsah fenolických látek v čerstvé i zpracované zelenině pomocí Folin-Ciocalteuovy metody, ve které dochází k redukci Folin-Ciocalteuova činidla fenolickými sloučeninami a vzniku barevného komplexu. Fenolické látky jsou také důležitými antioxidanty chránící potraviny před oxidací, čímž zabraňují nežádoucím pochodům v potravinách. Součástí této práce bylo spektrofotometrické stanovení antioxidační aktivity čerstvé i zpracované zeleniny pomocí metod ABTS a DPPH a porovnání získaných výsledků s produkty tržní sítě.

Charakterizace rostlinných olejů

Bc. Ondřej Pospíšil (M1)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Rostlinné oleje jsou nejen zdrojem nenasycených mastných kyselin (UFA), ale u nerafinovaných olejů nacházíme různé bioaktivní látky (fytosteroly, tokoferoly, fenolové sloučeniny, karotenoidy...), které přinášejí celou řadu zdravotních benefitů pro konzumenta. S ohledem na značnou hodnotu některých olejů se můžeme setkat v některých případech s jejich falšováním. Cílem této práce byla identifikace potencionálních markerů u vybraných rostlinných olejů pro odhalení těchto nežádoucích praktik. Analýze byly podrobeny vzorky olejů z netradičních surovin – lněný (*Linum usitatissimum*), višňový (*Prunus cerasus*), švestkový (*Prunus domestica*) a moringový (*Moringa oleifera*) olej. Polární analyty byly extrahovány methanolem a poté došlo k jejich separaci a detekci pomocí ultraúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-HRMS/MS). Následovalo vyhodnocení dat pokročilými statistickými postupy, při kterých byla využita vícerozměrná analýza dat. Na vytvořených modelech bylo zjevné rozdělení vzorků do jednotlivých skupin podle druhu oleje. Pro jednotlivé skupiny byly nalezeny specifické polární sloučeniny, které by mohly sloužit pro autentikaci těchto olejů.

Sledování toxických hydroxyanthracenů v potravinách a doplňcích stravy obsahujících aloe

Bc. Linda Průšová (M1)

Školitel: Ing. Vít Kosek, Ph.D.

Deriváty hydroxyanthracenů jsou přirozenými kontaminanty stále populárnějších potravin, nápojů a doplňků stravy vyrobených z *Aloe vera* a dalších rostlin. Jedná se o látky odvozené od anthracenu, tedy polyaromatické sloučeniny a jejich glykosidy, kterým jsou často připisovány pozitivní účinky na imunitní systém, trávení a pokožku. Z *Aloe* se pro výrobu nápojů a doplňků stravy používá nejčastěji šťáva, dále pak dužina a gel. Jejich sledování v potravinách je důležité z důvodu podezření z karcinogenity, cytotoxicity a genotoxicity vyplývající z nových studií. V této práci bylo analyzováno 10 nápojů a 11 doplňků stravy vyrobených z *Aloe*, které pocházely z českého trhu. V těchto vzorcích byl stanoven obsah tří derivátů hydroxyanthracenů: aloe-emodinu, emodinu a danthronu pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie v kombinaci s tandemovou hmotnostní spektrometrií s analyzátozem typu trojitý kvadrupól. Koncentrace aloe-emodinu ve vzorcích se pohybovala v rozmezí 2,13–15,14 ng/g pro nápoje a 8,10–115,61 ng/g pro doplňky stravy, což vyhovovalo legislativním požadavkům 1 ppm.

Ópiové alkaloidy vo výrobkoch na báze semien maku siateho (*Papaver somniferum*)

Bc. Monika Pšenáková (M1)

Školiteľ: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

V rastline maku siateho (*Papaver somniferum* L.) sa prirodzene vyskytujú ópiové alkaloidy. Ide o biologicky aktívne dusíkaté heterocyklické látky syntetizované rastlinou ako sekundárne metabolity. Ku kontaminácii semien alkaloidmi môže dôjsť v priebehu zberu, pozberovými úpravami či po poškodení makovej kapsule. Na trhu s potravinami dochádza k falšovaniu makových semien vysokomorfinovým makom pestovaného pre farmaceutické účely. To vyúsťuje k potrebe sledovať hladiny alkaloidov vo všetkých výrobkoch na báze makových semien. Nariadenie Komisie EÚ 2021/2142, ktoré vstúpilo do platnosti 1.7.2022, stanovilo nové maximálne limity OA vo forme tzv. morfinového ekvivalentu (suma morfin + $0,2 \cdot \text{kodéin}$) na $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Táto práca bola zameraná na analýzu rôznych druhov makových semien a makových múk. Na separáciu a detekciu OA bola využitá metóda vysoko účinnej kvapalinovej chromatografie v spojení s tandemovou hmotnostnou spektrometriou (HPLC-MS/MS). V rámci monitoringu boli všetky vzorky kriticky zhodnotené z hľadiska obsahu a profilov siedmich OA (morfin, kodéin, tebaín, oripavín, laudanozín, noskapín a papaverín) a porovnané s platnými legislatívnymi limitmi. Tri vzorky makových múk prekročili daný limit a je nimi možné naplniť ARfD morfinového ekvivalentu ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ bw}$).

Sekce 4

MÍSTO: B 31

KOMISE

doc. Ing. Milena Stránská, Ph.D. (předseda)

Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.

prof. Dr. Ing. Richard Koplík

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Natália Ritomská](#) (M2, Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.)

Vývoj analytickej stratégie pre overenie autenticity špaldovej múky

09:20 [Bc. Ondřej Rubáš](#) (M1, Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.)

Výskyt pyrrolizidinových alkaloidů v koření

09:40 [Bc. Kateřina Sonntag](#) (M1, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Metabolomika jako nástroj autentikace jedlého hmyzu

10:00 [Lucie Stará](#) (B3, Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.)

Hodnocení kvality zeleninových lupínků na českém trhu

10:20 [Bc. Klára Stehlíková](#) (M2, doc. Dr. Ing. Věra Schulzová)

Sledování zakázaných barviv v potravinách

10:40 [Bc. Aneta Sýkorová](#) (M2, prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.)

Jaká je expozice populace ČR chlorovaným parafínům?

11:00 [Bc. Anna Šírová](#) (M2, doc. Dr. Ing. Karel Cejpek)

α -Dikarbonylové sloučeniny vznikající z galaktooligosacharidů

vyhlášení výsledků

Vývoj analytickej stratégie pre overenie authenticity špaldovej múky

Bc. Natália Ritomská (M2)

Školiteľ: Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.

Autenticita potravín je jedným z hlavných znakov kvality potravín. Niektoré potraviny, predovšetkým drahšie, sú cieľom falšovania, za účelom zvýšenia zisku podvodnými producentmi. Jedným z najčastejších typov falšovania je čiastočná náhrada drahšej suroviny za lacnejšiu. Veľmi často dochádza k falšovaniu komodít ako sú olivový olej, korenie, ale napríklad aj špaldová múka môže byť cieľom falšovania, a preto je predmetom riešenia tejto práce. Pšenica špalda je plodina, ktorá sa vyznačuje nižšími výnosmi pri pestovaní v porovnaní s pšenicou siatou, a vyššími nákladmi na produkciu, preto je predajná cena výrazne vyššia, než cena pšeničnej múky. Súčasná metóda na overenie authenticity špaldovej múky sú založené na genetickej analýze a stanovovaní proteínového profilu, tieto metódy majú určité limitácie. Cieľom štúdie je vývoj novej stratégie pre odhalenie falšovania špaldovej múky. K tomu účelu je testovaný potenciál neriešovej metabolomickej analýzy pomocou ultraúčinnnej kvapalinovej chromatografie v spojení s vysokorozlišovacou tandemovou hmotnostnou spektrometriou a následnou chemometrickou analýzou. Vyšetrením polárnych extraktov vzoriek sa zatiaľ podarilo vytipovať charakteristické zlúčeniny oboch odrôd pšenice a pomocou nich došlo k oddeleniu vzoriek pšeničných a špaldových múk.

Výskyt pyrrolizidinových alkaloidů v koření

Bc. Ondřej Rubáš (M1)

Školitel: Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.

Dobromysl nebo též oregano je běžně používaným kořením. Své uplatnění našla také ve včelařství pro svůj obsah cukru v nektaru či v léčitelství, je i součástí bylinných čajů. Přes některé pozitivní vlivy na lidský organismus či senzorické vjemy však může být oregano kontaminováno také toxickými látkami, např. rostlinnými alkaloidy. Často detekované pyrrolizidinové alkaloidy jsou jakožto toxické sekundární metabolity produkovány dvouděložnými rostlinami z čeledi *Boraginaceae* či *Asteraceae* a koření jako takové bývá kontaminováno při sklizni sběrem a přimísením přítomných plevelů. V rámci této práce byla sledována přítomnost pyrrolizidinových alkaloidů ve 12 vzorcích oregana z maloobchodní sítě ČR pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS/MS). Stanovené koncentrační hladiny pyrrolizidinových alkaloidů byly vyhodnoceny také porovnáním s novým maximálním limitem pro jejich obsah ve vybraných potravinách (1 000 µg/kg). Dosažené výsledky byly také srovnány s výsledky z roku 2020 pro vzorky oregana, které byly analyzovány před přijetím tohoto nového nařízení. U některých zkoumaných vzorků došlo k významnému překročení tohoto limitu.

Metabolomika jako nástroj autentikace jedlého hmyzu

Bc. Kateřina Sonntag (M1)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Jedlý hmyz je od roku 2018 řazen mezi tzv. potraviny nového typu. Jedná se o netradiční surovinu s velkým nutričním a ekologickým potenciálem. Vyšší počet schválených druhů a relativně vysoká cena jedlého hmyzu s sebou nese zvýšené riziko falšování, buď záměnou druhu hmyzu přidávaného do výrobku za druhy chované pro krmné účely nebo neschválené pro použití v potravinách, nebo nedodržením deklarovaného množství. Komplikujícím faktorem pro odhalení falšování může být relativně velká přirozená variabilita složení jedlého hmyzu (v závislosti na složení krmiva, prostředí chovu atd.). Cílem této pilotní studie bylo ověřit potenciál metabolomické strategie umožňující autentikaci výrobků na bázi hmyzu. Necílový screening připravených směsí tří běžně dostupných výrobků s definovaným – od 0 do 100 % rostoucím – přídatkem cvrčka domácího (*Acheta domestica*) byl realizován pomocí techniky ultra-vysokoučinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-HRMS/MS). Naměřená data byla zhodnocena pomocí metod vícerozměrné statistické analýzy. Na základě sestavených modelů bylo možné odlišit vzorky dle velikosti přídatku cvrččí mouky. V dalším kroku budou identifikovány markery přídatku cvrččí mouky.

Hodnocení kvality zeleninových lupínků na českém trhu

Lucie Stará (B3)

Školitel: Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.

Smažené zeleninové lupínky jsou prezentovány jako „zdravější“ varianta k tradičním smaženým bramborovým lupínkům. Zelenina pro jejich přípravu disponuje vysokým obsahem redukcujících cukrů, které jsou limitujícím prekurzorem pro vznik procesního kontaminantu akrylamidu, jehož obsah může být v těchto výrobcích mnohonásobně vyšší nežli v lupíncích bramborových. V současné době není obsah akrylamidu (pravděpodobný lidský karcinogen skupiny 2A) legislativně regulován. Evropskou komisí byly stanoveny tzv. porovnávací hodnoty, kterými se ověřuje účinnost opatření ke snížení akrylamidu v potravinách. Dosavadní hodnoty jsou platné pro potraviny přispívající nejvíce dietární expozici akrylamidu. Nyní se uvažuje o zavedení maximálních limitů a nových porovnávacích hodnot pro další potraviny, kterými jsou právě i zeleninové lupínky. U nich je uvažována hodnota 700 µg/kg. Cílem této práce bylo proto stanovit obsahu akrylamidu v zeleninových lupíncích dostupných na českém trhu. Vzorky byly analyzovány pomocí ultraúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-MS/MS). Z výsledků vyplývá, že obsah akrylamidu překročil v některých výrobcích uvažovanou porovnávací hodnotu i více než 2x.

Sledování zakázaných barviv v potravinách

Bc. Klára Stehlíková (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

V dnešní době při upřednostňování zdravé výživy a stravování dle nejrůznějších diet se velká část populace zaměřuje na složení potravin. Často jsou sledována tzv. "éčka" neboli aditiva. Ta se dělí do několika skupin, jako jsou sladidla, antioxidanty nebo barviva. Do potravin se přidávají za nejrůznějšími účely, např. konzervace nebo zahuštění potravin. Pro zvýšení atraktivnosti potravin se používají barviva. Jejich použití je regulováno Nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1333/2008, jelikož barviva, především syntetická, mohou mít neblahý vliv na lidské zdraví. Mohou způsobovat hyperaktivitu nebo alergie, některá zakázaná barviva jsou dokonce karcinogenní. V naší studii jsme se zaměřili na sledování obsahu syntetických barviv v rizikových skupinách potravin, tedy často falšovaných skupinách (koření a potraviny určené pro děti – nápoje, cukrovinky). Vzorky byly analyzovány pomocí metody vysokoúčinné kapalinové chromatografie spojené s tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-MS/MS). Výsledky byly následně srovnány s legislativou a informacemi uvedenými na obalu potravin.

Jaká je expozice populace ČR chlorovaným parafínům?

Bc. Aneta Sýkorová (M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D.

Chlorované parafíny (CP) se využívají jako změkčovadla polyvinylchloridu, retardéry hoření a kapaliny pro obrábění kovů. CP se díky jejich fyzikálně-chemickým vlastnostem řadí mezi persistentní organické polutanty, klasifikují se jako možné lidské karcinogeny a mohou ovlivňovat endokrinní soustavu. Monitoring CP v biologických matricích je vhodným indikátorem ke zjištění expozice člověka těmito látkám. CP byly extrahovány směsí hexanu a diethyletheru, extrakt se následně přečistil na silikagelu a jako instrumentální koncovka byla využita plynová chromatografie s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií. Při vývoji metody byly zjištěny vysoké hladiny CP ve slepých pokusech. Cílem práce bylo přezkoumání kritických kroků metody, identifikace možných zdrojů kontaminace a následná analýza 62 vzorků krevního séra. K výrazné eliminaci kontaminace přispěl výběr kyvet používaných při extrakci a promývání laboratorního nádobí hexanem. Z celkového počtu vzorků bylo 11 pozitivních pro CP s krátkým řetězcem (SCCP) i CP se středním řetězcem (MCCP). Koncentrace SCCP se pohybovaly v rozmezí <120-653 ng/g tuku (medián 128 ng/g tuku) a MCCP <240-1529 ng/g tuku (medián 408 ng/g tuku). V porovnání s Čínou, kde nálezy CP dosahují až desítek tisíc ng/g tuku, je expozice populace v ČR výrazně nižší.

α -Dikarbonylové sloučeniny vznikající z galaktooligosacharidů

Bc. Anna Šírová (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Karel Cejpek

Významnými meziprodukty Maillardovy reakce a karamelizace cukrů jsou reaktivní karbonylové sloučeniny jako např. (deoxy)glykosulose nebo methylglyoxal. V potravinách způsobují snížení nutriční hodnoty z důvodu modifikace esenciálních aminokyselin, stojí za změnou sensorických vlastností potravin nebo technologicky významných vlastností bílkovin. Tato práce se zabývá kinetikou vzniku α -dikarbonylových sloučenin z galaktooligosacharidů – laktosy a laktulose – ve vodném prostředí. Výsledky jsou porovnány s analogickými reakčními systémy obsahujícími monosacharidy – glukosu, fruktosu a galaktosu. Stanovení α -dikarbonylových sloučenin po derivatizaci *o*-phenylendiaminem na chinoxalinové deriváty proběhlo prostřednictvím vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s detektorem fotodiodového pole (HPLC-DAD). Součástí práce je optimalizace separace cílových analytů a určení α -dikarbonylových látek typických pro galaktooligosacharidy.

Sekce 5

MÍSTO: B 33

KOMISE

prof. Dr. Ing. Jan Poustka (předseda)

doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

Ing. Michal Stupák, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Zuzana Špačková](#) (M1, Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.)

Analýza perfluoralkylovaných sloučenin v rybách

09:20 [Bc. Martina Štěpánová](#) (M2, doc. Dr. Ing. Věra Schulzová)

Stabilita karotenoidů při zpracování zeleniny a jejich degradační produkty

09:40 [Bc. Matěj Uhlíř](#) (M1, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Charakterizace CBD olejů z pohledu jejich bezpečnosti a autenticity

10:00 [Bc. Kristýna Vosálová](#) (M2, prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.)

Studium fytoKANABINOIDŮ a jejich metabolitů v biologickém materiálu

10:20 [Bc. Lenka Wojčíková](#) (M2, Ing. Lucie Drábová, Ph.D.)

Stanovení lipofilních vitaminů v mateřském mléce

10:40 [Bc. Michaela Zelená](#) (M2, Ing. Michal Stupák, Ph.D.)

Využití plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií pro analýzu metabolomu konopí

11:00 [Bc. Ondřej Znamínko](#) (M2, Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.)

Vývoj metod pro kvalitativní analýzu různorodé skupiny organických látek potenciálně kontaminujících potraviny

vyhlášení výsledků

Analýza perfluoralkylovaných sloučenin v rybách

Bc. Zuzana Špačková (M1)

Školitel: Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.

Per- a polyfluoralkylové sloučeniny (PFAS) jsou početnou skupinou syntetických látek, které se díky svým jedinečným vlastnostem využívají v průmyslu a komerčních výrobcích. Během jejich výroby/aplikace unikají do životního prostředí, kde mohou pro živé organismy představovat toxikologické riziko. Evropský úřad pro bezpečnost potravin v roce 2020 stanovil pro $\Sigma 4$ PFAS (PFOS, PFOA, PFHxS, PFNA) tolerovatelný týdenní příjem (TWI) 4,4 ng/kg těl. hm. Cílem práce bylo zjistit obsah 27 PFAS v rybách (30 lososů z české a polské tržní sítě), které se řadí mezi hlavní dietární zdroje těchto látek. Analyty byly izolovány metodou QuEChERS, získaný extrakt byl přečištěn disperzní extrakcí na tuhou fázi a látky byly stanoveny ultra účinnou kapalinovou chromatografií s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Mezi nejčastěji přítomné látky (ve více než 50 % vzorků) patřily PFOA, PFHxA, PFHpA, PFDA a FOSA (rozmezí mediánů 0,01-0,08 ng/g). Vyšší nálezy byly v lososech nakoupených v Polsku, kdy v nejvyšší koncentraci byla kvantifikována PFHpA (medián 0,15 ng/g). Odhadnutý týdenní příjem PFAS pro dospělé populaci konzumací vyšetřených ryb byl porovnán s aktuálním TWI. K jeho překročení nedošlo, ale bylo potvrzeno, že ryby mohou významně přispívat k celkové expozici člověka.

Stabilita karotenoidů při zpracování zeleniny a jejich degradační produkty

Bc. Martina Štěpánová (M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

Karotenoidy jsou důležitá přírodní barviva, která člověk nedokáže syntetizovat, proto je přijímá v potravě. Mají několik účinků na zdraví, mezi které se řadí např. pozitivní působení proti rakovině nebo antioxidační schopnost. Karotenoidy jsou rozpustné v tucích. Vhodná je proto jejich konzumace současně s olejem, který zvyšuje jejich extrahovatelnost a s tím i související biologickou dostupnost. Karotenoidy jsou poměrně nestabilní a často dochází k jejich degradaci a vzniku tzv. apokarotenoidů. Při degradaci karotenoidů může docházet k isomeraci, oxidaci, epoxidaci nebo hydrolýze. Cílem práce bylo sledovat hladiny a stabilitu karotenoidů v batátech, rajčatech a mrkvi. Karoteny mají čistě uhlíkatý řetězec, zatímco xantofyly obsahují ve své struktuře kyslík a mohou se vyskytovat ve formě esterů. Pro převedení vázaných forem na volné xantofyly bylo současně s extrakcí provedeno zmýdelnění pomocí 30 % KOH. V rámci této analýzy byly pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s detektorem diodového pole (HPLC-DAD) porovnány obsahy karotenoidů v čerstvé a zpracované zelenině. Degradační produkty byly sledovány prostřednictvím superkritické fluidní chromatografie (SFC) s hmotnostní spektrometrií (Q-TOF).

Charakterizace CBD olejů z pohledu jejich bezpečnosti a authenticity

Bc. Matěj Uhlíř (M1)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Fytokanabinoidy jsou skupina sekundárních metabolitů vyskytujících se v rostlině *Cannabis sativa* L.. Mezi nejvýznamnější fytokanabinoidy patří kanabidiol (CBD), který má neuroprotektivní a antioxidační účinky, a jeho izomer Δ^9 -tetrahydrokanabinol (Δ^9 -THC), pro který díky psychotropní účinkům platí legislativní opatření. Na trhu jsou dnes nabízeny různé doplňky stravy na bázi CBD, nejčastěji ve formě jeho roztoku v oleji. CBD izolovaný z vhodných kultivarů konopí často obsahuje i malá množství Δ^9 -THC, jehož odstranění v rámci purifikačního kroku nebylo úplné. Pro účely hodnocení zdravotních rizik dietárního příjmu Δ^9 -THC, Evropský úřad pro bezpečnost potravin (EFSA) stanovil akutní referenční dávku (ARfD) pro tento kanabinoid 1 $\mu\text{g/kg}$ tělesné hmotnosti/den. Cílem této práce bylo stanovení obsahu jednotlivých fytokanabinoidů ve vzorcích CBD olejů a zhodnocení zjištěných nálezů Δ^9 -THC na základě jejich srovnání s ARfD při doporučené konzumaci produktu. Analýza byla provedena pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (UHPLC-HRMS/MS) a na závěr byly profily olejů hodnoceny z pohledu shody s deklarovaným složením.

Studium fytoKANABINOIDŮ a jejich metabolitů v biologickém materiálu

Bc. Kristýna Vosálová (M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Intenzivně zkoumanou skupinou biologicky aktivních sekundárních metabolitů konopí jsou fytoKANABINOIDY. Mezi nejznámější patří psychotropní Δ^9 -terahydroKANABINOL (Δ^9 -THC) a nep psychotropní KANABIDIOL (CBD), u kterého se předpokládá díky protizánětlivým a antioxidačním vlastnostem velký terapeutický potenciál například pro léčbu neurodegenerativních a neurologických onemocnění. FytoKANABINOIDY ovlivňují řadu biologických pochodů, ale jejich působení a osud v organismu je ovlivněn řadou faktorů. Významnou roli hrají způsob formulace a podání dané látky, neboť mají zásadní vliv na jejich biologickou dostupnost. Cílem této práce bylo rozšířit stávající metodu ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-MS/MS) pro analýzu fytoKANABINOIDŮ a jejich metabolitů v biologických matricích o nově dostupné analytické standardy. Metoda byla následně aplikována pro analýzu reálných vzorků kultivačního media Hanks' Balance Salt solution a Caco-2 buněk, které byly exponovány 1% roztoky fytoKANABINOIDŮ KANABIGEROLU (CBG) a CBD nebo samostatným 1% roztokem CBG s cílem zjištění jejich biologické dostupnosti. Analýzou bylo možné zjistit nejenom tento parametr, ale i případnou biotransformaci nebo metabolismus daných fytoKANABINOIDŮ.

Stanovení lipofilních vitaminů v mateřském mléce

Bc. Lenka Wojčíková (M2)

Školitel: Ing. Lucie Drábová, Ph.D.

Mateřské mléko je primární výživou dítěte od jeho narození až do zhruba 6 měsíců věku. Poskytuje veškeré potřebné látky jako jsou živiny, minerální látky a vitaminy pro růst a vývoj novorozence a snižuje riziko vzniku různých onemocnění (např. alergie, autoimunitní onemocnění, diabetes mellitus, obezita atd.). Cílem projektu bylo stanovit hladiny lipofilních vitaminů (vitaminu A, D, E a K) ve vzorcích mateřského mléka matek donošených a nedonošených dětí. Vzorky byly po alkalické hydrolýze extrahovány opakovanou extrakcí kapalina-kapalina (LLE) rozpouštědlem *n*-hexanem s 0,2 % BHT. Ke stanovení sledovaných analytů byla použita kapalinová chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií s ionizací elektrosprejem (LC-ESI-MS/MS). Metoda byla úspěšně validována s opakovatelností $\leq 11,2$ % a s výtěžností 109–120 %. Hodnoty LOQ byly naměřeny v rozmezí od 0,001 do 0,050 $\mu\text{g/ml}$ mléka. Celkem bylo vyšetřeno 34 vzorků mateřského mléka. Zjištěné množství vitaminu D se pohybovalo v rozmezí 0,001–0,009 $\mu\text{g/ml}$ mléka, vitaminu A 0,028–1,23 $\mu\text{g/ml}$ a vitaminu E 1,38–10,4 $\mu\text{g/ml}$ mléka. Vitamin K nebyl ve vzorcích detekován, kvůli jeho přirozeně nízké hladině v mateřském mléku.

Využití plynové chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií pro analýzu metabolomu konopí

Bc. Michaela Zelená (M2)

Školitel: Ing. Michal Stupák, Ph.D.

V posledních letech je zájem o konopí a konopné produkty výrazně zvýšen, a to především kvůli léčebným účinkům konopí. V odborné literatuře je popsáno několik významných skupin látek v konopí (např. fytokanabinoidy nebo terpeny), které jsou zodpovědné za biologicky aktivní účinky, nicméně je pro popis konopného metabolomu nutné vyvíjet stále nové analytické metody. Cílem této práce bylo vyvinout a optimalizovat extrakční metodu, která umožní detekovat co nejvíce látek. Pro tento účel byla testována metoda derivatizace, díky které je umožněno detekovat větší množství látek (např. fytokanabinoidní kyseliny, ve kterých je obsažena-COOH skupina). Pro separaci a detekci jednotlivých látek byla využita technika plynové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (GC–HRMS). Tato metoda byla aplikována na soubor reálných vzorků 5 různých odrůd konopí a naměřená data byla podrobena chemometrickým analýzám, pomocí kterých bylo dosaženo rozlišení vzorků právě podle odrůdy. Následně byly významné látky zodpovědné za toto rozlišení detekovány a identifikovány pomocí knihovny NIST a nově vytvořené knihovny spekter o vysokém rozlišení vybraných fytokanabinoidů.

Vývoj metod pro kvalitativní analýzu různorodé skupiny organických látek potenciálně kontaminující potraviny

Bc. Ondřej Znamínko (M2)

Školitel: Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.

Mezi hlavní úlohy Evropského úřadu pro bezpečnost potravin (EFSA) patří identifikace a hodnocení rizik spojených s potravinami. Ústav analýzy potravin a výživy (ÚAPV) se jako spoluřešitel aktuálně zabývá projektem „Screening nových chemických rizik v potravinovém řetězci“, jehož je EFSA zadavatelem. Rolí ÚAPV v tomto projektu je: (i) vývoj analytických metod pro screening různorodé skupiny 49 organických látek, které byly systematicky vybrány v rámci předchozí studie EFSA jako potenciální nová rizika; (ii) analýza 194 směsných vzorků potravin rostlinného i živočišného původu z tržní sítě vybraných států EU. Tato práce se zabývala aplikací ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS/MS) pro účely zmíněného projektu. V první fázi byly vyvinuty kvalitativní metody v módu HILIC. Dále byla pro jednotlivé matrice optimalizována příprava vzorku. Pro některé analyty byla vhodná extrakční metoda QuEChERS, pro více polární analyty byly nalezeny vhodné alternativy. S využitím instrumentace UHPLC-MS/MS a optimalizovaných extrakčních postupů se tak podařilo vytvořit screeningovou metodu pro 26 analytů. Ve vzorcích byly detekovány látky 1-vinyl-2-pyrrolidone, N-methyl-2-pyrrolidone, N-methylacetamide, N,N-dimethylacetamide a melamine.

Ústav konzervace potravin (324)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

SEZNAM SEKCI

1. [Ústav konzervace potravin](#)

Ústav konzervace potravin

MÍSTO: B24

KOMISE

doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D. (předseda)

Ing. Eva Šviráková, Ph.D.

Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Eliška Fořtová](#) (M2, doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.)

Vývoj sušených masných výrobků

09:15 [Bc. Filip Hruška](#) (M2, doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.)

Využití rostlinných extraktů při výrobě masných výrobků

09:30 [Bc. Dominik Landsinger](#) (M2, doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D.)

Hodnocení kvality výrobků z ovoce a zeleniny

09:45 [Bc. Lucie Nováková](#) (M2, Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.)

Využití bakteriofágů při zpracování bramborových hlíz

10:00 [Bc. Eliška Rezková](#) (M2, Ing. Jan Pivoňka, Ph.D.)

Role imitací masa ve výživě

10:15 [Bc. Martina Rudišarová](#) (M2, Ing. Tereza Škorpilová, Ph.D.)

*Charakterizace včelího vosku (*Apis mellifera*) pomocí pokročilých instrumentálních metod*

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - ÚSTAV KONZERVACE POTRAVIN

vesmír

Vývoj sušených masných výrobků

Bc. Eliška Fořtová (M2)

Školitel: doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.

Sušení je obecně chápáno jako odstranění vody z produktu na principu rozdílu teplot nebo relativní vlhkosti. K urychlení sušících procesů lze využít i nové technologie, jako je například pulzní elektrické pole (PEF = pulsed electric field). Jedná se o relativně novou netermální technologii využívanou v potravinářství zejména jako konzervační metoda. Principem je aplikace krátkých (μs) elektrických impulsů vysokého napětí na potravinu. Tyto impulsy pak kromě usmrcení přítomné mikroflóry v potravíně mohou modifikovat strukturu membrán a zvyšovat tak přenos látek, tedy i odpařování vody během sušení. V rámci této práce byl hodnocen vliv ošetření PEF o různých napětích (0,5; 0,75; 1,0; 1,5; 2,0; 4,0 kV/cm) na hovězí maso (*M. psoas major*), u kterého pak byla hodnocena barva, textura, a_w , pH, elektrická vodivost, ztráty vody okapem a následně i rychlost sušení. U hovězího masa jako vstupní suroviny byla nejvýznamněji ovlivněna barva, ztráty vody okapem ($p < 0,001$) a textura ($p < 0,05$). Největší vliv PEF ošetření byl pozorován u napětí 0,75 kV. Při tomto napětí pak byl hodnocen vliv PEF na rychlost sušení a bylo zjištěno, že se rychlost odpařování vody po ošetření PEF zvýšila. Výsledky tedy naznačují možnost využití PEF k urychlení procesu sušení při výrobě sušených masných výrobků.

Využití rostlinných extraktů při výrobě masných výrobků

Bc. Filip Hruška (M2)

Školitel: doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.

Údržnost masa a masných výrobků je především ovlivněna oxidací lipidů a mikrobiálními změnami. Pro zpomalení těchto změn jsou do výrobků přidávány antioxidanty a konzervační látky. V Evropské unii jsou za tímto účelem využívány přídatné látky označené E-kódem, jejichž přídavek musí být deklarován na etiketě. V rozporu s názory odborníků není veřejnost přesvědčena o benefitech spojených s využíváním přídatných látek, které jsou považovány za méně významné ve srovnání s vnášenými riziky. Možným řešením je využití všeobecně přijímanějších rostlinných extraktů pro zachování údržnosti masných výrobků. Mimo jiné mohou přinášet do výrobků sloučeniny s bioaktivními účinky nebo snížit množství používaných dusitanů. Pro experimentální posouzení byly využity dva komerční přípravky extraktů koření. Jemný salám s přídavkem extraktů byl podroben stanovení celkového počtu mikroorganismů, stanovení barvy a stanovení thiobarbiturového čísla.

Hodnocení kvality výrobků z ovoce a zeleniny

Bc. Dominik Landsinger (M2)

Školitel: doc. Ing. Aleš Rajchl, Ph.D.

Jablka obsahují velkou škálu fenolických sloučenin. Variabilita jejich profilu je u plodu dána odrůdou, fází dozrávání, vegetačním obdobím, prostředím, dále pak i charakterem skladování a zpracování. Obsah fenolů ovlivňuje vlastnosti plodu/odrůdy pro následné zpracování a technologii, zejména díky jejich antioxidační aktivitě. Fenolické látky také ovlivňují organoleptické vlastnosti plodu a poskytují rostlinám ochranu proti patogenům a škůdcům. Stěžejní metodou pro stanovení fenolických látek v jablcích je dnes vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) na reverzní fázi s různými druhy detekce. Předmětem této práce je úprava metody (HPLC-DAD) převzaté z literatury (příprava vzorku, podmínky chromatografické analýzy, podmínky detekce) pro jablka a jablečné výrobky, následná kvantifikace základních fenolických látek ve dvou odrůdách jablek a jablečné šťávě a přezkoumání vlivu čiření jablečné šťávy na obsah polyfenolů.

Využití bakteriofágů při zpracování bramborových hlíz

Bc. Lucie Nováková (M2)

Školitel: Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.

Cílem této práce bylo ověřit účinnost bakteriofágů proti bakteriím, které způsobují hnilobu bramborových hlíz. Cílovou bakterií, která způsobuje hnilobu brambor a jiných plodin, je *Dickeya dianthicola*. Pokusy byly provedeny přímo na plátcích brambor s vizuálním sledováním nárůstu bakterií ve formě bakteriální hniloby a porovnání s nárůstem bakterií inhibovaným pomocí bakteriofágů. Druhou metodou testující inhibiční účinky fágů na růst bakterií byla kultivace na kouscích brambor uzavřených v sáčkích. Ty byly následně nakrájeny na hranolky o šířce 1,5 cm a délce 3 cm. Očkování bylo provedeno máčením hranolků v bakteriální suspenzi *Dickeya dianthicola* (D50) a u příslušných sáčků i v suspenzi fágů. Pokus byl proveden v pěti paralelních opakováních. Takto připravené sáčky byly uloženy ke kultivaci do termostatu při teplotách 4 °C, 15 °C a 25 °C. Vzorky byly hodnoceny po 24, 48 a 72 a 96 hodinách. Účinek fágů na bakterii byl hodnocen pomocí změny textury (penetrace) bramborových hlíz a změny barvy. Z výsledků měření barvy vyplynulo, že působení fága mělo nejvýraznější vliv na světlost. Dále bylo zjištěno, že metoda kultivace na kouscích brambor z hlediska změny textury není vhodná. V příštích pokusech bude kultivace prováděna na celých plátcích brambor.

Role imitací masa ve výživě

Bc. Eliška Rezková (M2)

Školitel: Ing. Jan Pivoňka, Ph.D.

Tato práce se zaměřuje na rostlinné imitace masných výrobků, které jsou v dnešní době stále populárnější, neboť jsou podporovány i na politické úrovni v rámci strategie *Farm to Fork* (Od zemědělce ke spotřebiteli), a tím jejich zastoupení na trhu rapidně roste. Cílem práce je shromáždit data o dostatečně velkém vzorku těchto imitací různého typu a složení, provést jejich srovnání a diskutovat zjištěné rozdíly. Tyto rozdíly jsou dále posuzovány také v souvislosti s mírou zpracovanosti produktů a využívanými technologickými postupy ve výrobě. Při dalším řešení práce bude navázáno na dosavadní zjištění porovnáním názorů laické veřejnosti a odborníků na tento typ potravin, a tedy bude posouzena jejich výživová gramotnost v oblasti imitací masa.

*Charakterizace včelího vosku (*Apis mellifera*) pomocí pokročilých instrumentálních metod*

Bc. Martina Rudišarová (M2)

Školitel: Ing. Tereza Škorpilová, Ph.D.

Včelí vosk je unikátní přírodní lipidická látka, jehož specifické vlastnosti zastupují v přírodě nenahraditelnou roli. Pro včely je to základní stavební matrice sloužící jako chovný prostor, předmět ke komunikaci či prostor pro ukládání zásob medu. Vzhledem ke své jedinečnosti je včelí vosk velmi ceněná látka, což má mimo jiné za následek čím dál častější případy jeho falšování. Takové případy jsou známy již z historie, avšak vzrůstající nedostatek produktu zavdává podněty k neustálému rozvoji a zdokonalování falšování. Dříve se využívaly přírodní látky na podobné bázi jako např. hovězí lůj. Dnes mezi nejpoužívanější adulteranty patří látky syntetické např. parafin či stearin. V prostředí malých včelařů lze pro ověření autenticity včelího vosku využít jednoduché testy, které lze provádět i v domácím prostředí. Pro detailnější analýzu je však třeba přesnějších metod. Pomocí HPLC-Q-TOF/MS jsme schopni získat fingerprint dané látky a následně zhodnotit, zda byl daný vzorek autentický. Analyzován byl soubor autentických přírodních včelích vosků (divočiny) a vybraných adulterantů. Následně byla získaná spektra statisticky zpracována pomocí analýzy hlavních komponent (PCA).

Ústav chemie přírodních látek (342)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Elena Prokudina, Ph.D.

SEZNAM SEKČÍ

1. [Chemie přírodních látek I](#)
2. [Ústav chemie přírodních látek II](#)

SPONZOŘI

L'ORÉAL



HPST

vesmír

Chemie přírodních látek I

MÍSTO: NEUVEDENO

KOMISE

Doc. Dr. Ing. Ivan Raich (předseda)

PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D

Ing. Michal Jurášek, Ph.D.

PROGRAM

zahájení

[Bc. Michal Fischer](#) (M1, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Syntéza konjugátů diglykosylamidů s antibiotiky

[Bc. Petra Gwozdiaková](#) (M2, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Charakterizace růstového faktoru IGF-II, jeho receptoru a vazebných proteinů.

[Lina Kieuová](#) (M2, Ing. Roman Effenberg, Ph.D.)

Kolipidy pro postliposomální modifikace

[Bc. Rostislav Kleveta](#) (M2, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Syntéza a imobilizace fluorovaných hexosaminů na multivalentní nosiče

[Bc. Ondřej Orság](#) (B1, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Optimalizace fotokatalytické stereoselektivní syntézy α -D-glykopyranosyl tetrazolů

[Adéla Paulusová](#) (B3, doc. Ing. Martin Kuchař, Ph.D.)

Optimalizace fotokatalytické degradace endokrinních disruptorů ve vodném prostředí

[Bc. Karel Tůma](#) (B1, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Stereoselektivní syntéza β -C-mannopyranosidů

[Bc Věra Šemelíková](#) (M2, Ing. Kamil Parkan, Ph.D.)

Stereoselektivní syntéza diglykosylazolů a jejich využití

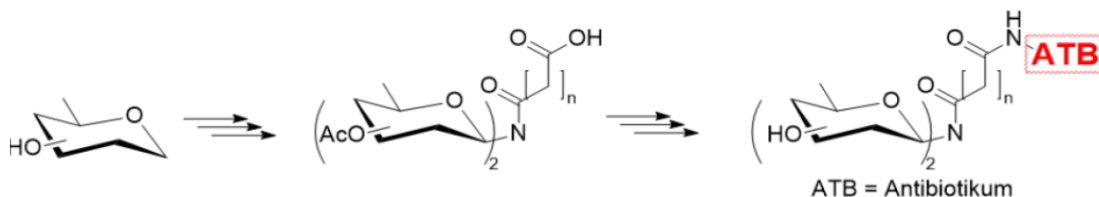
vyhlášení výsledků

Syntéza konjugátů diglykosylamidů s antibiotiky

Bc. Michal Fischer (M1)

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

V současné době je antibiotická resistance vážný problém v rozvojových, ale i vyspělých zemích. Má práce se zabývá syntézou derivátů antibiotik, které by potenciálně mohly tento problém řešit. Jedná se o konjugáty diglykosylaminů s antibiotiky, kde antibiotikum je s diglykosylaminem spojeno vhodným amidovým linkerem. Glykosidová část konjugátu by se měla vázat na povrchové receptory bakterií zvané lektiny, a tím lokalizovat antibiotikum přímo k bakteriální buňce. Tento jev by měl být obzvláště užitečný proti bakteriálním biofilmům, které jsou proti volným antibiotikům odolné. Dále by tyto deriváty mohly mít určitou antibiotickou selektivitu, kterou by zprostředkoval vhodně zvolený sacharid v diglykosylamidu. Syntéza těchto konjugátů vychází z jednoduchých aldohexos, které jsou převedeny na diglykosylaminy a dále selektivně *N*-acylovány za vzniku diglykosylamidu. Tyto deriváty dále reagují s aminoskupinou antibiotika za vzniku amidové vazby.



Charakterizace růstového faktoru IGF-II, jeho receptoru a vazebných proteinů.

Bc. Petra Gwozdiaková (M2)

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

Růstový faktor IGF2 patří do insulinové rodiny peptidů a proteinů. Mimo IGF2 obsahuje insulin, IGF1 a tzv. relaxinové peptidy. Mezi těmito peptidy je poměrně velká homologie v primární, sekundární a také v terciální struktuře. Díky této homologii se zmíněné peptidy váží na podobné receptory a další proteiny, které zprostředkovávají jejich biologickou odpověď a dostupnost. Zatímco insulin zajišťuje transport glukosy do buněk, čímž snižuje hladinu glykémie, růstové faktory IGF se podílejí na regulaci růstu a vývoje. V dospělosti se také výrazně liší hladiny těchto jednotlivých peptidů insulinové rodiny v těle, přičemž IGF2 je asi třikrát více než IGF1 a asi 8000 x více než insulinu. Hlavními receptory pro insulin a IGF1 jsou tyrosinkinázové receptory – insulinový a IGF1 receptor, které ale velmi účinně dokáží vázat i IGF2. Navíc existuje rovněž i IGF2 receptor, na který se z insulinové rodiny váže pouze IGF2. Tento receptor je známý také jako mannos-6-fosfát/IGF2 receptor, protože dokáže vázat také mannosylované proteiny, které transportuje do buňky k jejich degradaci. V naší práci jsme se zaměřili na interakci IGF2 s M6P/IGF2 receptorem a zabýváme se zejména přípravou IGF2 analogu konjugovaného s mannosou-6-fosfát, který by mohl interagovat s různými vazebnými místy na M6P/IGF2R.

Kolipidy pro postliposomální modifikace

Lina Kieuová (M2)

Školitel: Ing. Roman Effenberg, Ph.D.

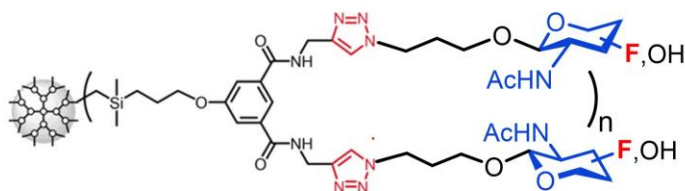
Liposomy představují vhodný systém, pro transportní či diagnostické účely v humánní medicíně. Základní stavební složkou jsou fosfolipidy stabilizované například cholesterolem, což zaručuje jejich biokompatibilitu. Takto připravené liposomy nemají biologickou specifitu. Z tohoto důvodu je důležitá příprava kolipidů s vhodnými skupinami pro postliposomální ligace vektorových molekul. Práce se zabývá přípravou kolipidů na bázi symetricky větvené mastné kyseliny s hydrofilní spojkou, nesoucí funkční skupiny pro postliposomální modifikace. Na liposomy prezentující ortogonální funkční skupiny se vedle vektorových molekul mohou zavést látky vhodné pro terapeutické, či diagnostické účely.

Syntéza a imobilizace fluorovaných hexosaminů na multivalentní nosiče

Bc. Rostislav Kleveta (M2)

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

Tématem mé práce je příprava fluorovaných hexosaminů opatřených linkerem v anomerní poloze určených pro jejich imobilizaci na multivalentní nosiče s cílem zvýšit afinitu k receptorům lektinového typu. Práce zahrnuje syntézu ortogonálně chráněných fluorovaných glykosyldonorů, jejich napojení na linker s terminální azidovou skupinou prostřednictvím 1,2-*trans* O-glykosidické vazby a nalezení vhodných podmínek pro navázání vzniklého produktu na dendritický nosič buď pomocí cykloadice azid-alkyn, nebo prostřednictvím amidové vazby po redukci terminálního azidu na amin.

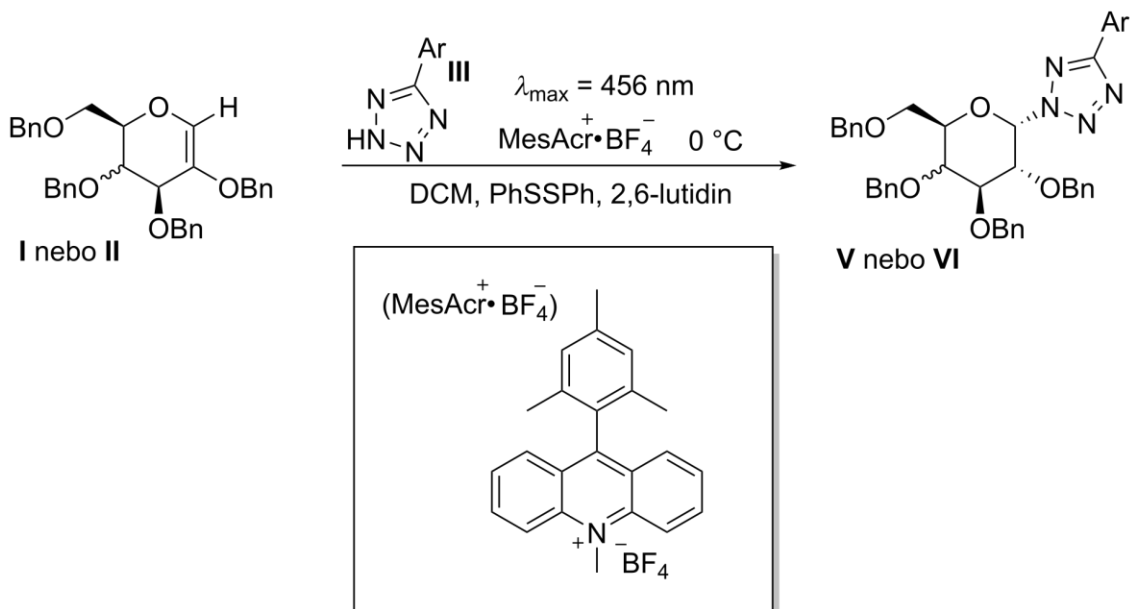


Optimalizace fotokatalytické stereoselektivní syntézy α -D-glykopyranosyl tetrazolů

Bc. Ondřej Orság (B1)

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

Tato práce se zabývá optimalizací nově nalezené fotokatalytické radikálové adice iniciované modrým světlem ($\lambda_{\max} = 456 \text{ nm}$) 2H-tetrazol-5-ylových derivátů III na dvojnou vazbu 2,3,4,6- -tetra-O-benzylovaných D-glykalů I a II. Tato reakce vede s vysokou stereoselektivitou výhradně k N-glykosyl derivátům s relativní konfigurací 1,2-*cis*, která v případě mnoha využitých substrátů, 1,5-anhydro-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-arabino-hex-1-enitol I a 1,5-anhydro-2,3,4,6-tetra-O-benzyl-D-lyxo-hex-1-enitol II, odpovídá α -konfiguraci na anomerním uhlíku těchto N-glykosylderivátů. Výchozí látky I a II byly připraveny pomocí Appelovy reakce, následovanou eliminací vzniklých 1-brom derivátů pomocí DBU. Pro optimalizační reakce byl využit D-glukal I s 5-fenyl-2H-tetrazolem. Průběh reakce byl sledován prostřednictvím ^1H NMR spektroskopie.



Optimalizace fotokatalytické degradace endokrinních disruptorů ve vodném prostředí

Adéla Paulusová (B3)

Školitel: doc. Ing. Martin Kuchař, Ph.D.

Endokrinní disruptory jsou chemické látky, které mohou narušovat hormonální systém. Tyto látky jsou považovány za škodlivé z toho důvodu, že mohou způsobovat vrozené vývojové vady nebo rakovinová onemocnění. U živočichů z řad ryb mohou způsobovat u samčích jedinců neplodnost nebo dokonce přeměnu v samici. Endokrinní disruptory se vyskytují ve stopovém množství v odpadních vodách, přičemž čističky odpadních vod jsou v jejich odstraňování nedostačující. Fotokatalýza se ukazuje jako efektivní doplňková metoda ke konvenčnímu čištění odpadních vod. Tato technologie využívá oxidu titaničitého a UV záření k degradaci polutantů pomocí radikálových reakcí. Cílem práce je optimalizace fotokatalytické degradace endokrinních disruptorů z hlediska účinnosti. Jako zástupce byl vybrán 17α -ethinylestradiol, jako nejčastěji používaný syntetický estrogen v hormonální antikoncepci. Jako fotokatalyzátor je použit TiO_2 P25 ve formě suspenze a imobilizovaný na nosiči. Efektivita fotokatalytické degradace je sledována pomocí HPLC-DAD metody.

Stereoselektivní syntéza β -C-mannopyranosidů

Bc. Karel Tůma (B1)

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

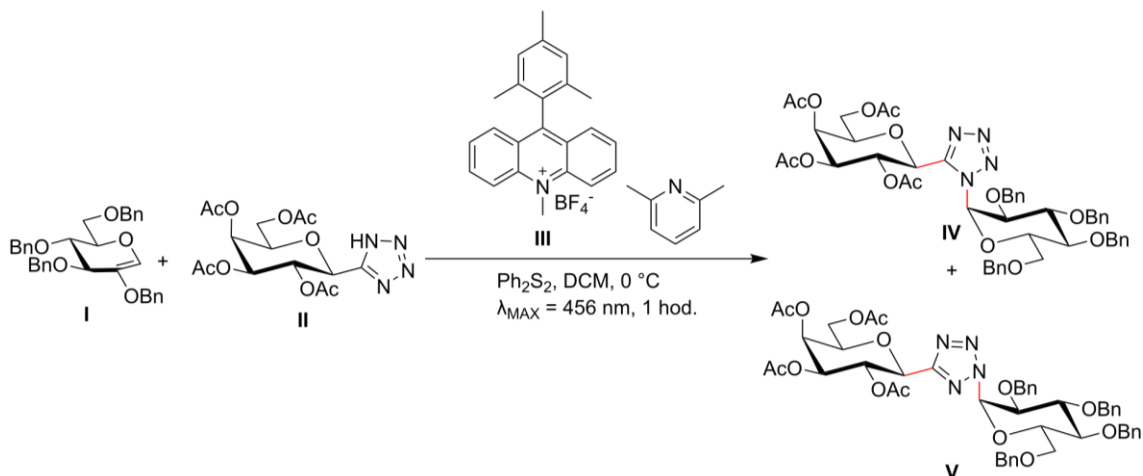
Ačkoli jsou β -d-mannopyranosidy v přírodě velmi vzácné, lze jejich strukturní motiv nalézt v některých mikroorganismech, kde mají významnou biologickou roli. Nejvýznamnějším zástupcem těchto β -d-manno derivátů je ADP-l-glycero- β -d-manno-heptopyranosa 1, která je nezbytná pro syntézu extracelulárních lipopolysacharidů některých gramnegativních bakterií. ⁽¹⁾ Oba tyto fakty, ojedinělý a specifický výskyt těchto derivátů, jsou tak inspirací k vývoji nových selektivně působících léčiv s antimikrobiálním účinkem. Stereoselektivní syntéza vedoucí stereoselektivně k β -d-mannopyranosidů je vzhledem k 1,2-*cis* uspořádání velmi obtížná a dosud je výzvou cukerné chemie. V této práci se zaměřuji na stereoselektivní syntézu β -C-mannopyranosidů novým a efektivním způsobem z 2,3;4,6-di-*O*-isopropyliden-d-glukalu 2. ^(2,3) Ten je C-1 lithiací a následnou reakcí s C-elektrofilními činidly (E^+) převeden na 1,2-nenasycené C-glukosidy 3, které lze pouhou hydrogenací stereoselektivně transformovat na kýžené C-glykoppyranosidy 4 s výhradní β -d-manno konfigurací.

Stereoselektivní syntéza diglykosylazolů a jejich využití

Bc Věra Šemelíková (M2)

Školitel: Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

Limitujícím faktorem při hledání nových glykomimetik představuje *O*-glykosidová vazba, která je citlivá zejména na enzymatickou a kyselou hydrolýzu, což omezuje terapeutické využití těchto látek. Vyšší stability a biologické aktivity lze docílit například náhradou *O*-glykosidové vazby vazbou *N*-glykosidovou. Právě příprava látek obsahujících tuto vazbu byla náplní mé práce. Jedním z možných syntetických přístupů, kterak lze látky obsahující *N*-glykosidovou vazbu připravit je S_N2 substituce glykosyltetrazolů s vhodně zvolenými glykosyl donory. Těmito reakcemi lze ale jen těžko připravit α -*N*-glykosidy. Vhodnějším přístupem je fotochemicky katalyzovaná radikálová reakce glykalů I s glykosyltetrazoly II iniciovaná viditelným světlem. Jako fotokatalyzátor se používá především komerčně dostupný 9-mesityl-10-methylakridinium tetrafluorborát III. Výhodná je hlavně tolerance použitých funkčních skupin, nízká spotřeba fotokatalyzátoru a kratší reakční čas. Cílem mé práce byla příprava výchozích cukerných tetrazolů a glykalů – zejména galaktalu a glukalu a následně studium regioselektivity a stereoselektivity fotochemických reakcí. Po deprotekcii použitých chránících skupin budou připravené látky testovány jako potenciální inhibitory galektinů.



Ústav chemie přírodních látek II

MÍSTO: NEUVEDENO

KOMISE

prof. Dr. RNDr. Oldřich Lapčík (předseda)

Ing. Petr Štěpánek Ph.D.

Ing. Jan Tauchen Ph.D.

PROGRAM

zahájení

[Dominik Friml](#) (B3, doc. Ing. Martin Kuchař, Ph.D.)

Stanovení kanabinoidního profilu v kosmetických přípravcích na bázi krémů metodou HPLC-MS

[Bc. Petra Hlavatá](#) (M2, doc. Ing. Martin Kuchař, Ph.D.)

Preparativní chirální separace syntetických kathinonů pro studium jejich bioaktivity

[Bc. Julie Jindrová](#) (M2, doc. Ing. Martin Kuchař, Ph.D.)

Stanovení ketaminu v klinickém hodnocení léčby farmakorezistentní deprese

[Lenka Kohoutová](#) (B3, PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.)

*Studium sekundárních metabolitů rostliny *Mitragyna speciosa**

[Bc. Viktorie Lukešová](#) (M2, PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.)

Analýza alkaloidů v makovině a opiu metodou HPLC-MS

[Bc. Dominika Mrázková](#) (M1, doc. Dr. Ing. Ivan Raich)

Modelování vazebných afinit derivátů fentanylu s μ -opiodním receptorem

[Bc. Aneta Nosková](#) (M2, Ing. Elena Prokudina, Ph.D.)

*Izolace a identifikace biologicky aktivních látek v zástupcích rodu *Capsicum**

[Aneta Pintová](#) (B3, None)

Studium fotokatalytické degradace methamfetaminu z vody

vyhlášení výsledků

Stanovení kanabinoidního profilu v kosmetických přípravcích na bázi krémů metodou HPLC-MS

Dominik Friml (B3)

Školitel: doc. Ing. Martin Kuchař, Ph.D.

Kanabinoidy jsou látky vyskytující se v rostlinách rodu Konopí (*Cannabis*). Tato rostlina je rozšířená po celém světě již tisíce let a od nepaměti jsou využívány její terapeutické účinky. Látky obsažené v konopí slouží v medicíně například pro léčbu neurodegenerativních a kožních onemocnění. Hlavními složkami konopí jsou tetrahydrokanabinol (Δ^9 -THC) a kanabidiol (CBD). Rostlina dále obsahuje například tetrahydrokanabinolovou kyselinu (THCA), kanabigerol (CBG) a kanabinol (CBN). Principem účinku kanabinoidů je jejich navázání na receptory endokanabinoidního systému, které se nachází v různých částech těla. To má za následek imunosupresivní reakce – zmírnění svědění, zánětu, bolesti a může tak docházet k efektivnímu hojení pokožky. Oblíbeným způsobem léčby kožních problémů je nanášení mastí, konopných olejů, tinktur či balzámu obsahujících kanabinoidy, přímo na kůži. Tato práce navazuje na již vyvinutou metodu, určenou pro stanovení kanabinoidů z topických přípravků a doplňků stravy. Jejím cílem je vytvořit a optimalizovat podmínky izolace kanabinoidů z produktů se složitou krémovou matricí, aby bylo možné tyto látky spolehlivě stanovit i v komerčně dostupných produktech.

Preparativní chirální separace syntetických kathinonů pro studium jejich bioaktivity

Bc. Petra Hlavatá (M2)

Školitel: doc. Ing. Martin Kuchař, Ph.D.

Nové psychoaktivní látky zahrnují mnoho různorodých sloučenin, které jsou díky svým účinkům zneužívány jako rekreační drogy. Počet těchto látek se neustále zvyšuje zejména z důvodu rychlého vývoje nových derivátů. Jednou z nejvíce rozšířených skupin nových psychoaktivních látek jsou syntetické kathinony, které jsou odvozené od přírodního alkaloidu (S)-kathinonu z tropické rostliny Kata jedlá (*Catha edulis*). K jejich zneužívání dochází zejména kvůli jejich dostupnosti a stimulačním účinkům podobným amfetaminům. Syntetické kathinony jsou zpravidla distribuovány ve formě racemické směsi, nicméně je známo, že jednotlivé enantiomery mohou mít odlišné účinky na živé organismy. Pro získání informací o působení jednotlivých enantiomerů je tedy nutná jejich chirální separace. Cílem této práce je vyvinout metodu preparativní enantioseparace derivátů cyklických kathinonů s využitím chirální stacionární fáze. Biologické účinky separovaných enantiomerů budou následně testovány pomocí metody PRESTO-TANGO, která stanovuje potenciál vazby k receptorům spřaženým s G-proteiny.

Stanovení ketaminu v klinickém hodnocení léčby farmakorezistentní deprese

Bc. Julie Jindrová (M2)

Školitel: doc. Ing. Martin Kuchař, Ph.D.

Ketamin je znám zejména pro své anestetické účinky využívané v humánní i veterinární medicíně. V nižších, subanestetických dávkách vykazuje též psychedelické účinky, což umožňuje jeho využití v léčbě depresí pomocí ketaminem asistované terapie. Při psychedelických terapiích je podávána dávka psychedelika vyvolávající psychedelický zážitek s terapeutickým dohledem. Ketamin patří mezi antagonisty *N*-methyl-d-aspartátového (NMDA) receptoru, který zprostředkovává jeho psychomimetické vlastnosti, přesný mechanismus účinku ketaminu v léčbě deprese ale není zcela znám. Předpokládá se, že kvůli blokaci NMDA receptoru dochází k navázání glutamátu na další glutamátergní receptor AMPA, jehož aktivace povzbuzuje růst a diferenciaci nových neuronů a synapsí. V játrech pak podléhá demethylaci a metabolizuje se na norketamin. Dále se předpokládá, že se zvyšující se intenzitou psychedelického zážitku se zvyšuje i antidepresivní účinek. Cílem této práce je vytvořit a optimalizovat LC-MS metodu pro stanovení ketaminu a také vybrat vhodný postup pro zpracování vzorků sér obsahujících ketamin. Tato metoda bude následně použita pro analýzu reálných vzorků sér pacientů s farmakorezistentní depresí účastnících se klinické studie v Národním ústavu duševního zdraví.

*Studium sekundárních metabolitů rostliny *Mitragyna speciosa**

Lenka Kohoutová (B3)

Školitel: PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.

Mitragyna speciosa Korth., spíše známá pod názvem kratom, je rostlina z čeledi Rubiaceae pocházející z jihovýchodní Asie. Tradičně je používána pro své analgetické, protizánětlivé, antipyretické a stimulační účinky, které jsou vyvolány především působením alkaloidů na řadu receptorů (např. opioidní, či serotoninové). Listy kratomu obsahují více než 40 alkaloidů, psychoaktivně působí hlavně mitragynin a jeho deriváty. Jelikož prodej této populární rostliny není dostatečně regulován, není zajištěna konzistentní kvalita komerčních kratomových produktů, a to jak z pohledu bezpečnosti, tak i zastoupení jednotlivých alkaloidů. Cílem této práce bylo stanovení sekundárních metabolitů (vybraných alkaloidů a fenolických látek) v komerčních produktech. Metodou UHPLC-MS/MS byl stanoven obsah mitragyninu, 7-hydroxymitragyninu a některých flavonoidů a fenolických kyselin. Dále byla provedena extrakce alkaloidů ze vzorku kratomu. Z 250 g rozemletých listů byly vícekrokovou extrakcí úspěšně získány 2 g alkaloidového extraktu, ve kterém byl stanoven obsah mitragyninu a 7-hydroxymitragyninu. Z extraktu budou dále pomocí kapalinové chromatografie izolovány další alkaloidy, které budou použity jako standardy pro UHPLC-MS/MS stanovení minoritních alkaloidů v dalších vzorcích kratomu.

Analýza alkaloidů v makovině a opiu metodou HPLC-MS

Bc. Viktorie Lukešová (M2)

Školitel: PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.

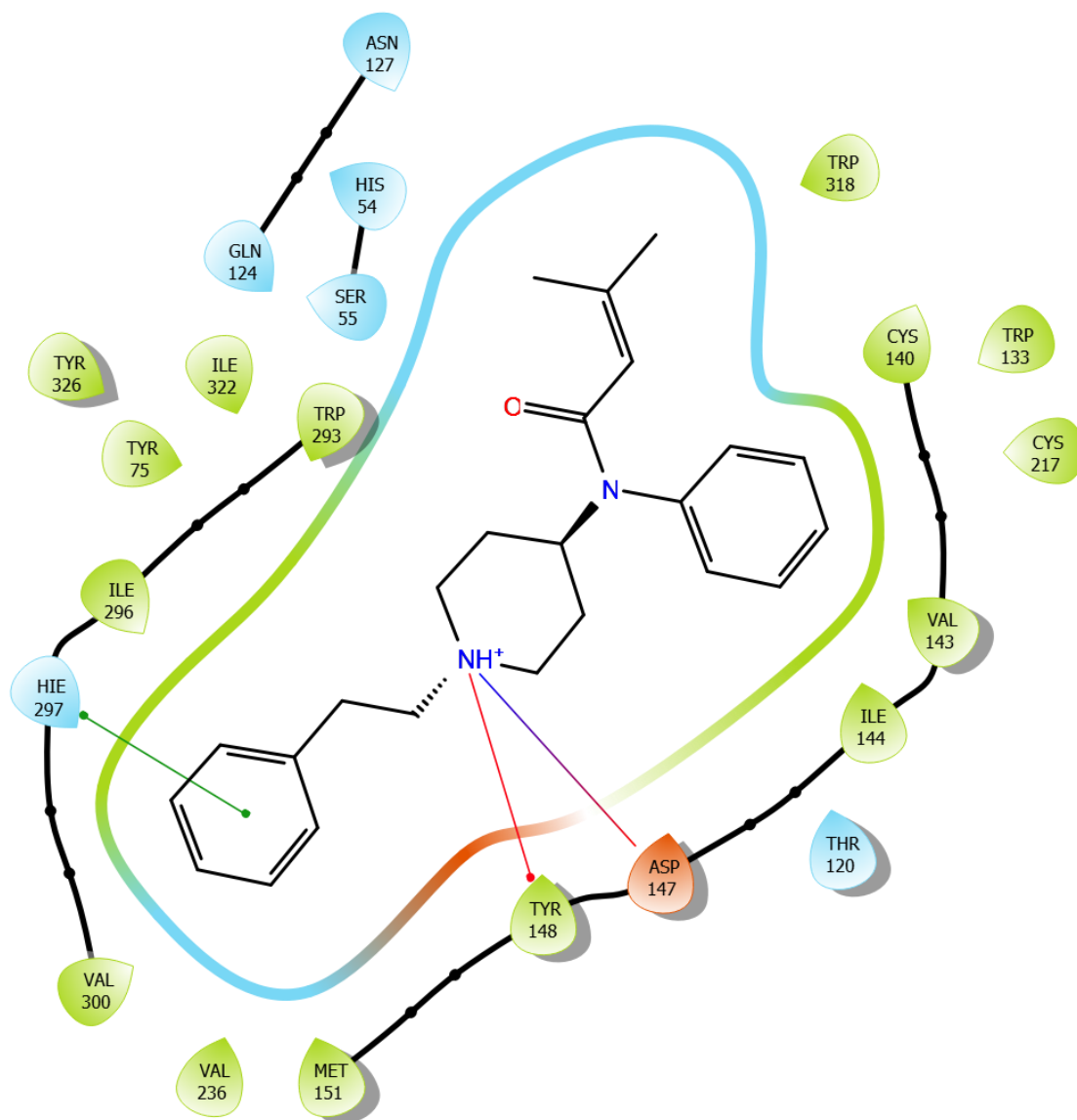
Mák setý (*Papaver somniferum* L.) je stará kulturní plodina patřící do čeledi makovitých (Papaveraceae) s dlouholetou tradicí pěstování v našich zemích, a to zejména jako zdroj potravinářského máku. Je také jednou z nejstarších léčivých rostlin lidstva a dodnes slouží jako komerční zdroj morfinu a kodeinu. Morfin je silným přirozeně se vyskytujícím prostředkem proti bolesti, kodein se používá zejména pro své antitusické účinky. Mimo tyto dva hlavní alkaloidy se v máku vyskytuje také thebain, papaverin, či noskapin. Čeleď makovitých se vyznačuje obsahem vodnatého či mléčného latexu uvnitř cév, a právě zde se alkaloidy hromadí jako produkty sekundárního metabolismu. Zaschlý latex z nezralých makovic je označován jako opium. Nejčastější metodou stanovení opiových alkaloidů je vysokoúčinná kapalinová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií (HPLC-MS). Cílem práce je nalézt vhodný způsob zpracování makoviny, optimalizovat extrakci alkaloidů v ní přítomných a pomocí metody HPLC-MS je analyzovat. Optimalizovaná metoda bude použita pro stanovení alkaloidů v dalších odrůdách máku setého s vyšším obsahem morfinu než stanovuje platná legislativa, a v další fázi také v opiu.

Modelování vazebných afinit derivátů fentanylu s μ -opioidním receptorem

Bc. Dominika Mrázková (M1)

Školitel: doc. Dr. Ing. Ivan Raich

Práce se zabývá molekulárním dokováním fentanylu a jeho derivátů do μ -opioidního receptoru. Tyto látky se v posledních letech hojně objevují mezi narkomany. Problém představují nové deriváty, u kterých není známa síla účinku, přičemž některé mohou působit až 10 000krát silněji než morfin. Studovány byly konkrétně karfentanyl, akrylfentanyl, valerylentanyl a nový derivát senecioylfentanyl, pro který nebyla známa žádná toxikologická data. Cílem práce bylo odhadnout sílu vazby a působení senecioylfentanylu v organismu. Flexibilním dokováním byly nalezeny vazebné módy látek a prostudovány interakce s rezidui ve vazebné kapse receptoru. Pro výběr nejlepší nízkoenergetické konformace byla počítána volná vazebná energie. Podle získaných výpočtů tvoří senecioylfentanyl energeticky nejméně výhodnou vazbu. Bylo predikováno, že bude mezi zmíněnými deriváty nejslaběji působící látkou.



Izolace a identifikace biologicky aktivních látek v zástupcích rodu Capsicum

Bc. Aneta Nosková (M2)

Školitel: Ing. Elena Prokudina, Ph.D.

Rod *Capsicum* z čeledi lilkovitých je rodem pálivých a nepálivých paprik či menších papriček. Okolo tohoto rodu vzrůstá popularita a to zejména díky své všestrannosti – potravinového i nepotravinového využití. Obsahuje řadu biologicky aktivních látek se zdravím prospěšnými vlastnostmi. Hlavními látkami jsou kapsaicinoidy, karotenoidy, fenolické látky a vitamíny - zejména C a E. Kapsaicinoidy, zodpovědné za pálivost chilli papriček, jsou studovány pro jejich četné farmakologické a fyziologické účinky, především protizánětlivé, analgetické, antibakteriální, protinádorové a antioxidační účinky. Také mohou sloužit k redukci hmotnosti prostřednictvím termogeneze a zrychlení metabolismu tuků. Navzdory svým zdravím prospěšným účinkům je terapeutické využití extraktů kapsaicinoidů díky své pálivosti omezeno. Kapsinoidy a kapsikoninoidy, nepálivé analogy kapsaicinoidů, by mohly tento problém vyřešit. Mají téměř identickou biologickou aktivitu, ale s výrazně menší nepříjemnou pálivostí. Práce se soustředí na extrakce pomocí různých rozpouštědel, analýzou získaných extraktů dostupnými metodami na přítomnost biologicky aktivních látek. Hlavní zaměření spadá na izolaci kapsaicinu a dihydrokapsaicinu, následně na izolaci minoritních komponent primárně kapsinoidů.

Studium fotokatalytické degradace methamfetaminu z vody

Aneta Pintová (B3)

Školitel: None

Omamné a psychotropní látky jsou čím dál více diskutovanými polutanty vodního prostředí. Tyto sloučeniny jsou běžnými procedurami v čističkách odpadních vod odstraněny jen částečně, a proto se v malých koncentracích dostávají až do vod povrchových, kde mohou působit toxicky na vodní organismy a životní prostředí. Velký potenciál při odstraňování psychoaktivních látek z odpadních vod má fotokatalytická degradace s využitím TiO_2 . Pomocí této metody je možné rozložit organické látky až na CO_2 a H_2O jen za pomoci UV záření. Cílem výzkumu je vyhodnotit fotokatalytickou degradaci methamfetaminu z vody a otestovat vliv experimentálních podmínek na rychlost jeho degradace. Tento analyt byl vybrán z toho důvodu, že Česká republika je již několik let největším výrobcem a konzumentem methamfetaminu v Evropě. Jako fotokatalyzátor byl zvolen TiO_2 ve formě nanočástic nanesených elektroforetickou depozicí na ocelovou desku.