FAKULTA POTRAVINÁŘSKÉ
A BIOCHEMICKÉ TECHNOLOGIE
VŠCHT PRAHA

Studentská Vědecká Konference

2026

19. 11 2026

SBORNÍK ANOTACÍ

Fakulta potravinářské a biochemické technologie

ORGANIZAČNÍ TÝM

FAKULTNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Michaela Marková, Ph.D.
Mgr. Blanka Morchová

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOŘI

319 ÚSTAV BIOTECHNOLOGIE

Ing. Ivana Křížová, Ph.D.

320 Ústav biochemie a mikrobiologie

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

321 ÚSTAV SACHARIDŮ A CEREÁLIÍ

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. Jakub Zýka, Ph.D.

Ústav biotechnologie (319)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Ivana Křížová, Ph. D.

SEZNAM SEKCÍ

1. Biotechnologie I

2. Biotechnologie II

3. Biotechnologie III

SPONZOŘI


arxada


MERCK


bioTech
innovative


Plzeňský Prazdroj


DYNEX


Altium


SHIMADZU
Excellence in Science


La Lorraine
BAKERY GROUP

Biotechnologie I

MÍSTO: A111, PRACOVNA VEDOUCÍ

KOMISE

prof. Ing. Alena Čejková, CSc. (předseda)
Ing. Marcel Karabín, Ph. D.
Ing. Alžběta Dostálková, Ph. D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

Bc. Marie Svozilová (Mgr. 2. ročník)
Produkce GABA v kombuše a vinném moštu při kofermentaci s Levilactobacillus brevis

Bc. Daniel Tomynec (Mgr. 2. ročník)
Sledování vlivu vnějších podmínek na průběh kultivace a metabolismus zástupců rodu Psilocybe

Bc. Adéla Mocová (Mgr. 2. ročník)
Potenciál mikroorganismů čeledi Thraustochytriaceae pro produkci lipidů v přítomnosti ethylenglykolu

Bc. Vítězslav Rybář (Mgr. 2. ročník)
Sledování vlivu vnějších podmínek na průběh kultivace a metabolismus zástupců rodu Psilocybe

Bc. Šimon Peter Keršláger (Mgr. 2. ročník)
Biotechnologická produkce lipidů bakteriemi z radonových vod pro výrobu unikátních uhlovodíků a alkoholů

Bc. Kateřina Šišperová (Mgr. 2. ročník)
Interakce SARS-CoV-2 s hostitelským proteomem v časných fázích infekce

Bc. Vojtěch Šmejkal (Mgr. 2. ročník)
Porovnání metod výroby nealkoholických piv

Bc. Adam Fremr (Mgr. 1. ročník)
Možnosti zvýšení obsahu antioxidantů ve fermentovaných nealkoholických produktech

Bc. Tereza Krausová (Mgr. 2. ročník)
Vliv lignocelulosových inhibitorů na produkční profil a detoxifikační schopnosti producentů rozpouštědel

Produkce GABA v kombuše a vinném moštu při kofermentaci s Levilactobacillus brevis

Bc. Marie Svozilová

M2

prof. Ing. Jarošová Irena, Ph.D.

Kombucha je fermentovaný nápoj na bázi čaje, který je díky polyfenolům a organickým kyselinám spojován s antioxidačními a antimikrobiálními účinky. Funkční vlastnosti nápoje lze modifikovat využitím alternativních substrátů nebo řízenou kofermentací s bakteriemi mléčného kvašení, produkujícími kyselinu γ-aminomáselnou (GABA). GABA je bioaktivní neproteinogenní aminokyselina, fungující jako hlavní inhibiční neurotransmiter a je spojována s relaxačními a antihypertenzními účinky. Cílem práce bylo cílenou kofermentací zvýšit obsah GABA v kombuše s čajem a vinným moštem. Na základě screeningu byl jako hlavní producent vybrán *Levilactobacillus brevis* RPMI 2-78.
Experimentální část zahrnovala kultivační varianty kombinující kombuchovou kulturu s kmenem *L. brevis* RPMI2-78 a suplementací kyselinou glutamovou jakožto prekurzorem pro syntézu GABA v čajovém nálevu a vinném moštu. V průběhu fermentace byly odebírány vzorky za účelem stanovení obsahu GABA a kyseliny glutamové pomocí HPLC. Současně byly spektrofotometricky stanoveny vybrané parametry nápojů, konkrétně celkový obsah polyfenolů (TPC) a antioxidační aktivita metodami DPPH a ABTS. Získané výsledky umožní posoudit vliv fermentační matrice, přídavku *L. brevis* a prekurzoru na tvorbu GABA a současně zhodnotit změny vybraných funkčních vlastností výsledných fermentovaných nápojů.

Sledování vlivu vnějších podmínek na průběh kultivace a metabolismus zástupců rodu Psilocybe

Bc. Daniel Tomynec

Ročník studia M2

Školitel Ing. Jana Michailidu, Ph.D.

Růst mycelia a jeho sekundární metabolismus nemusí na změny kultivačních podmínek reagovat stejně. Práce se proto nejprve zaměřuje na vliv složení kultivačního média a vybraných fyzikálně-chemických podmínek na tvorbu biomasy *Psilocybe cubensis* při submerzní kultivaci, s cílem následně hodnotit také intracelulární metabolity.
Úvodní screening sedmi kultivačních faktorů ukázal více než dvojnásobný rozdíl v koncentraci suché biomasy (9,81–20,84 g/l). Regresní model odhadl nejvýraznější pozitivní efekt na tvorbu biomasy u kvasničného extraktu, zatímco vyšší teplota a přídavek sladového extraktu vykazovaly negativní efekt.
Na screening navázaly další kultivační experimenty zaměřené na složení média a počáteční pH. Současně probíhá vývoj LC-MS metody pro analýzu vybraných indolových metabolitů.

Potenciál mikroorganismů čeledi Thraustochytriaceae pro produkci lipidů v přítomnosti ethylenglykolu

Bc. Adéla Mocová

Ročník studia: M2

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

Mikroorganismy čeledi Thraustochytriaceae mají vysoký potenciál pro využití v biotechnologiích pro produkci polynenasycených mastných kyselin. Jsou schopny utilizovat širokou škálu substrátů, a proto jsou perspektivní pro biotechnologické procesy využívající vedlejší produkty z průmyslové výroby, což může přispět ke snížení výrobních nákladů a environmentální zátěže.
Cílem projektu, jehož součástí je tato práce, je vývoj procesu, v němž by mikroorganismy čeledi Thraustochytriaceae využívaly ethylenglykol vznikající alkalickou hydrolýzou polyethylentereftalátu (PET). V tomto experimentu byly testovány tři mikrobiální kmeny (*Schizochytrium limacinum* SR21, *Schizochytrium* sp. S8 a *Aurantiochytrium* sp. T66) při dvou počátečních koncentracích ethylenglykolu (5 a 10 g/l) za účelem výběru vhodného kmene pro další experimenty. Ačkoli testované kmeny byly schopny růstu v přítomnosti ethylenglykolu, nebyl během kultivace zaznamenán jeho detekovatelný úbytek. Analýza biomasy prokázala obsah lipidů v rozmezí přibližně 9–16 % sušiny, ve všech testovaných podmínkách byla dominantní mastnou kyselinou dokosahexaenová kyselina (DHA).
Pro posouzení potenciálu těchto mikroorganismů pro biotransformaci ethylenglykolu je třeba provést experimenty s využitím jiných mikrobiálních kmenů a kultivačních podmínek. Přestože nebyla prokázána utilizace ethylenglykolu, byla potvrzena schopnost testovaných kmenů tvořit biomasu s vysokým relativním zastoupením DHA i v jeho přítomnosti.

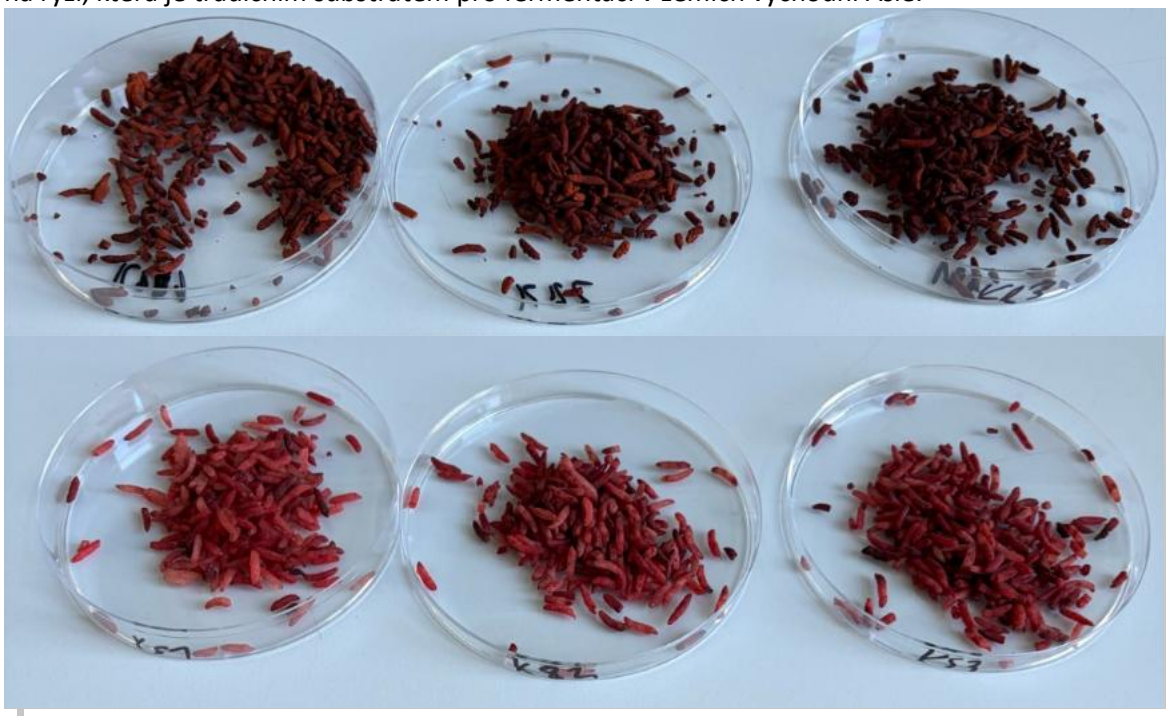
Produkce sekundárních metabolitů vybranými kmeny sekce Rubri rodu Monascus

Bc. Vítězslav Rybář

Ročník studia M2

Školitel prof. Dr. Ing. Petra Patáková

Rod *Monascus* zahrnuje vláknité houby z kmene *Ascomycota*, známé především produkcí červených, oranžových a žlutých pigmentů, které mají tradiční využití v asijských zemích. Mezi produkované sekundární metabolity patří kromě již zmíněných azafilonových barviv i monakolin K a bohužel u některých druhů rodu *Monascus* také mykotoxin citrinin. Pigmenty jsou předmětem výzkumu pro své potenciální využití v potravinářském a farmaceutickém průmyslu jako konzervanty, barviva nebo aditiva, protože některé z nich vykazují antimikrobiální, antioxidační, protizánětlivé a protirakovinné aktivity.
Cílem práce je porovnat produkci pigmentů, citrininu a monakolinu k u čtyř kmenů, zařazených do různých druhů rodu *Monascus*; konkrétně u *M. purpureus* DBM 4360, *M. pilosus* DBM 4361*, M. ruber* DSM 1541 *a M. sanguineus* CBS 123568 ze sekce Rubri za různých kultivačních podmínek, a to na pevných i kapalných médiích s různými zdroji uhlíku. Analýza pigmentů je prováděna zejména v extraktech z mycelia, spektrofotometricky a pomocí UHPLC. Součástí je také kultivace na rýži, která je tradičním substrátem pro fermentaci v zemích východní Asie.



Obrázek: Červená rýže získaná kultivací zástupců rodu *Monascus*; nahoře *M. sanguineus*, dole *M. purpureus.*

Biotechnologická produkce lipidů bakteriemi z radonových vod pro výrobu unikátních uhlovodíků a alkoholů

Bc. Šimon Peter Keršláger

Ročník studia M2

Školitel prof. Ing. Jarošová Irena Ph.D.

Tato práce se zabývá studiem a optimalizací kultivačních podmínek environmentálních bakteriálních izolátů (rodů Rothia, Rhodococcus, Nocardia a Micrococcus) pocházejících z radonových pramenů v Jáchymově. Hlavním cílem výzkumu je zhodnotit schopnost izolátů akumulovat lipidy a charakterizovat složení mastných kyselin s potenciálem pro katalytickou výrobu uhlovodíků a mastných alkoholů. Byl porovnáván růst bakterií v komplexním TSB médiu, 50% TSB a minerálním médiu s limitací dusíku při teplotách 15 a 30 °C.

Výsledky prokázaly výrazné rozdíly v lipidových profilech jednotlivých izolátů. U kmenů JACH 101, 201, 215 a 418 dominovaly rozvětvené mastné kyseliny, zejména iso- a anteiso-C15:0 a C17:0, které v některých případech tvořily více než 90 % celkových mastných kyselin. Izolát JACH 308 vykazoval vysoké zastoupení 10-methyloktadekanové kyseliny (10-Me-C18:0), dosahující přibližně 25 % při 15 °C a dusíkové limitaci. Za stejných podmínek dosahoval izolát JACH 214 přibližně 16 % lipidů v sušině s dominantním zastoupením kyseliny olejové (více než 70 %).

U některých izolátů byla pozorována spontánní tvorba makroskopických buněčných agregátů (pelet), potenciálně související s hydrodynamickými podmínkami kultivace. U izolátu JACH 417 vykazovalo sedm samostatných analytických stanovení materiálu z jedné kultivační série podobné složení mastných kyselin navzdory rozdílům v celkovém obsahu lipidů.

Získané výsledky potvrzují značnou rozmanitost lipidových profilů studovaných izolátů a naznačují jejich potenciál jako zdroje neobvyklých mastných kyselin pro biotechnologické a katalytické využití.

Interakce SARS-CoV-2 s hostitelským proteomem v časných fázích infekce

Bc. Kateřina Šišperová

Ročník studia: M2

Školitel: prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová

Infekce SARS-CoV-2 je stále předmětem intenzivního výzkumu zaměřeného na pochopení mechanismů, kterými virus využívá hostitelskou buňku ke své replikaci. Tato práce se zabývá změnami buněčného proteomu v časných fázích infekce SARS-CoV-2 a jejich možným významem pro průběh virové infekce. Pomocí diferenciální proteomiky byly porovnány proteinové profily infikovaných
a neinfikovaných plicních buněk a identifikovány proteiny, jejichž zastoupení se v důsledku infekce signifikantně mění. Z těchto proteinů byli pro následnou funkční analýzu vybráni kandidáti PLAU a RARRES1. Jejich potenciální úloha v životním cyklu SARS-CoV-2 je studována pomocí siRNA-indukovaného snížení genové exprese (knockdown). Účinnost knockdownu je ověřována metodou RT-qPCR a současně je hodnocen jeho vliv na životaschopnost buněk. Dosavadní výsledky potvrzují úspěšné snížení exprese vybraných genů bez výrazného ovlivnění buněčné viability.
V současnosti probíhá hodnocení vlivu knockdownu PLAU a RARRES1 na replikaci SARS-CoV-2 s cílem objasnit jejich případnou úlohu v interakcích mezi virem a hostitelskou buňkou.

Porovnání metod výroby nealkoholických piv

Bc. Vojtěch Šmejkal

Ročník studia (M2)

Školitel Ing. Tomáš Kinčl Ph.D.

Tato práce se zabývá porovnáním dvou technologií výroby nealkoholického piva, konkrétně biologické metody využívající maltózo-negativní kvasinky LalBrew® LoNa™ a fyzikální metody dealkoholizace pomocí reverzní osmózy. Cílem práce bylo zjistit vliv obou technologií na vybrané fyzikálně-chemické, analytické a senzorické vlastnosti výsledného produktu. U jednotlivých vzorků byly stanoveny hodnoty pH, barvy, hořkosti, obsahu celkových polyfenolů, stability pěny, základních parametrů pomocí automatického analyzátoru Anton Paar, profil karbonylových sloučenin a těkavých látek (esterů, vyšších alkoholů a chmelových silic) metodou GC-MS. Součástí práce bylo rovněž senzorické hodnocení zahrnující trojúhelníkovou zkoušku, párový preferenční test a deskriptivní analýzu.
Biologická metoda vedla k vyšší sladkosti a mladinovému charakteru podpořenému vyšším obsahem Streckerových aldehydů a deficitem těkavých látek. Reverzní osmóza naopak lépe zachovala estery, vyšší alkoholy, hořkost i polyfenoly, čímž se více přiblížila původnímu pivu. Senzorické hodnocení však neprokázalo jednoznačnou preferenci ani jedné z metod.

Možnosti zvýšení obsahu antioxidantů ve fermentovaných nealkoholických produktech

Bc. Adam Fremr

M1

prof. Ing. Irena Jarošová Ph.D.

V současné době se fermentované nápoje těší stále větší oblibě, zejména díky obsahu biologicky aktivních látek a potenciálním příznivým účinkům spojeným s jejich konzumací. Významným zástupcem je kombucha, fermentovaný nápoj připravovaný ze slazeného čaje a symbiotické kultury bakterií a kvasinek (SCOBY), jehož funkční vlastnosti souvisejí mimo jiné s obsahem polyfenolických látek a antioxidační aktivitou. Vhodnou volbou surovin a podmínek přípravy lze tyto vlastnosti dále ovlivnit.

V první fázi práce byl sledován vliv teploty a času extrakce u zeleného čaje Sencha na obsah celkových polyfenolů a antioxidační aktivitu. Pro následnou přípravu čaje jakožto fermentačního substrátu byly využity podmínky extrakce při 100 °C po dobu 25 minut, které poskytovaly nejvyšší hodnoty sledovaných parametrů.

V návaznosti na tuto optimalizaci byl dále hodnocen vliv různých zdrojů uhlíku (sacharosa, med, datlový sirup, melasa a vinný mošt) na vlastnosti kombuchy během 15denní fermentace. Sledováno bylo pH, celkový obsah polyfenolů a antioxidační aktivita. Výsledky ukázaly, že typ použitého cukerného substrátu významně ovlivňuje průběh fermentace i změny antioxidačních vlastností nápoje, přičemž zejména datlový sirup a melasa vedly k odlišnému vývoji sledovaných parametrů ve srovnání s tradičně používanou sacharosou. Volba alternativního zdroje uhlíku tak představuje jednu z možností cílené modulace funkčních vlastností kombuchy a přípravy nových fermentovaných nealkoholických nápojů.

Vliv lignocelulosových inhibitorů na produkční profil a detoxifikační schopnosti producentů rozpouštědel

Bc. Tereza Krausová

M2

doc. Ing. Barbora Branská, Ph.D.

Biotechnologická produkce butanolu z odpadní lignocelulosové biomasy pomocí bakterií roduClostridium představuje slibnou alternativu k petrochemii. Její ekonomickou výnosnost však mimo jiné limitují inhibitory vznikající během předúpravy biomasy.

Cílem této práce bylo zhodnotit fyziologickou odezvu bakteriální kultury na přítomnost těchto toxických látek a otestovat jejich vliv na celkovou produkci rozpouštědel, především butanolu. Také byla sledována produkce kyselin, spotřeba sacharidů a schopnost degradace inhibitorů. Kultivace probíhaly u dvou kmenů Clostridium beijerinckii (NCIMB 8052 a NRRL B–598) ve dvou odlišných médiích (definovaném P2 a komplexním TYA) za využití různých fyziologických stáří inokula. Účinek vybraných inhibitorů (furfuralu, kyseliny p–kumarové a kyseliny ferulové) byl sledován jak při jejich samostatném působení, tak ve vzájemných kombinacích.

Na základě naměřených dat bylo potvrzeno, že nejzásadnější vliv na překonání stresu způsobeného inhibitory má ze sledovaných parametrů právě stáří inokula. Jako nejodolnější se u obou kmenů ukázala starší kultura (OD600 ≈ 8,3). Mezi jednotlivými kmeny nebyly celkově pozorovány výrazné rozdíly v produkci rozpouštědel a k nejvyšší míře inhibice docházelo při současné aplikaci směsi všech tří inhibitorů. Získaná data zároveň potvrdila sekvenční degradaci inhibitorů, kdy buňky ze směsi přednostně detoxifikují furfural a až následně odbourávají fenolické kyseliny.

Biotechnologie II

MÍSTO: A111, KNIHOVNA ÚSTAVU BIOTECHNOLOGIE

KOMISE

prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc. (předseda)
doc. Ing. Martin Halecký, Ph. D.
Ing. Tomáš Kinčl, Ph. D.

PROGRAM

09:00 zahájení

Bc. Jakub Podhajský (Mgr. 1. ročník)
Antimikrobiální účinek biosyntetizovaných stříbrných nanočástic na růst Enterobacter cloacae

BSc Beatriz Landolt de Sousa Monteiro Barbosa(Mgr. 2. ročník)
Production and separation of pigments by the fungus Monascus

Bc. Kateřina Drobná (Mgr. 2. ročník)
Optimalizace podmínek LC-MS analýzy fytohormonů

Bc. Štěpán Hlavinka (Mgr. 2. ročník)
Extrudované škrob-xanthohumolové kompozity jako nový typ pivovarského surogátu a jejich vliv na vlastnosti sladin

Bc. Kateřina Čermáková (Mgr. 2. ročník)
Vliv přídavku kyseliny glutamové a extraktu z vinné révy na produkci GABA a obsah polyfenolů ve fermentovaném nápoji

Bc. Dominik Kabele (Mgr. 1. ročník)
Vliv chemického charakteru netermálního plazmatu a stáří bakteriální kultury na metabolickou aktivitu a integritu buněčných membrán

Bc. Anastasiia Blyzniuk (Mgr. 1. ročník)
Fyziologické změny solventogenních klostridií vyvolané působením inhibitorů ze zpracování lignocelulosy

Bc. Vanessa Anna Müllerová (Mgr. 2. ročník)
Možnosti aplikace odpadního extraktu z Cannabis sativa v biologické ochraně rostlin

Bc. Matúš Hacaj (Mgr. 1. ročník)
Vplyv predextrakcie a procesných podmienok na účinnosť organosolvovej frakcionácie lignocelulózovej biomasy

Antimikrobiální účinek biosyntetizovaných stříbrných nanočástic na růst Enterobacter cloacae

Bc. Jakub Podhajský

M1

doc. Ing. Olga Maťátková, Ph.D.

Antimikrobiální rezistence představuje závažný celosvětový problém, který podporuje hledání nových alternativních antimikrobiálních strategií. Tato práce se proto zabývá účinkem biologicky syntetizovaných stříbrných nanočástic (AgNPs) na suspenzní růst kmenu Enterobacter cloacae B-478, zástupce klinicky významné skupiny ESKAPE patogenů. Cílem bylo posoudit vliv morfologie nanočástic a jejich disperzního prostředí na antibakteriální aktivitu. K zelené syntéze AgNPs byl využit 40% ethanolový extrakt z letorostů révy vinné (Vitis vinifera), který sloužil jako redukční a stabilizační činidlo. Testovány byly čtyři varianty nanočástic: monodisperzní a polydisperzní AgNPs, ponechané v původním extraktu nebo po izolaci převedené do ultračisté vody. Inhibiční účinek byl sledován kontinuálním měřením optické denzity v zařízení Bioscreen C po dobu 24 hodin při koncentracích 2,5–80 mg/l. Výsledky prokázaly vysokou odolnost testovaného kmenu vůči AgNPs. U tří ze čtyř variant nepřesáhla inhibice ani při koncentraci 80 mg/l přibližně 25 %. Nejvýraznější antibakteriální účinek vykazovaly polydisperzní nanočástice ponechané v původním extraktu, které při nejvyšší koncentraci snížily růst buněk přibližně o 50 %. Výsledky tak ukazují význam morfologie nanočástic i složení disperzního prostředí a naznačují možné synergické působení polydisperzních AgNPs a látek přítomných v extraktu

Production and separation of pigments by the fungus Monascus

BSc Beatriz Landolt de Sousa Monteiro Barbosa

M2

Associate Professor Barbora Branska, PhD

Monascus species are filamentous fungi capable of producing yellow (ankaflavin, monascin, and monascuspiloin), orange (rubropunctatin and monascorubrin), and red (monascorubramine and rubropunctamine) pigments with applications in the food and pharmaceutical industries. This study evaluates pigment production by *Monascus purpureus* DBM 4360 and *Monascus pilosus* DBM 4361 cultivated in shaken and static submerged cultures and on agar media. Pigments were extracted and analyzed by spectrophotometry and UHPLC. The aim is to determine how cultivation conditions affect pigment biosynthesis in these two strains and to identify conditions that maximize pigment production. Preliminary results indicated that *M. purpureus* outperformed *M. pilosus* in pigment production, with static cultures exhibiting the highest absorbance values and UHPLC analysis identifying maximum concentrations of ankaflavin (3.77 g/L) and monascin (1.30 g/L). Rubropunctatin and monascorubrin reached maximum concentrations of 0.31 g/L and 0.43 g/L, respectively, in agar-grown *M. purpureus* cultures. In contrast, red pigment concentrations remained low, with a maximum concentration of 0.013 g/L for monascorubramine. These findings demonstrate the strong influence of strain and cultivation conditions on pigment production.

Optimalizace podmínek LC-MS analýzy fytohormonů

Bc. Kateřina Drobná

M2

Ing. Jana Michailidu, Ph.D.

Tato práce, která je součástí výzkumu vlivu biostimulantů na metabolismus *Cannabis sativa*, se zabývá optimalizací podmínek pro stanovení vybraných fytohormonů v rostlinném materiálu pomocí kapalinové chromatografie spojené s hmotnostní spektrometrií (LC-MS).
Fytohormony jsou rozmanitá skupina signálních molekul, které hrají klíčovou roli v regulaci fyziologického vývoje rostlin a adaptaci na podněty z prostředí. Změnami jejich množství lze mimo jiné způsoby získat informaci o aktuálním fyziologickém stavu rostliny. Jejich koncentrace v rostlinných tkáních jsou oproti primárním a sekundárním metabolitům extrémně nízké a z toho důvodu se pro jejich stanovení používá LC-MS, jež se vyznačuje vysokou přesností a citlivostí. Byla zvolena cílená analýza v režimu monitorování více reakcí (MRM) umožňující simultánně analyzovat i několik tříd fytohormonů, pro které jsou předem nastaveny specifické iontové přechody.
Sledovanými fytohormony jsou kyseliny salicylová (SA), abscisová (ABA) a jasmonová (JA). Pro každou kyselinu byly měřením analytických standardů nalezeny tři přechody z prekurzorového iontu na produktové ionty (SA: 137 → 93/65/75; ABA: 263 → 153/219/204; JA: 209 → 59/41/80). Dále byla vytvořena a pomocí standardů optimalizována metoda měření, což zahrnovalo úpravu gradientu, návrh mobilních fází a nastavení podmínek hmotnostního spektrometru, a byly zavedeny správné postupy práce na přístroji, zejména proplachy systému a kolony. Získané poznatky a optimalizované podmínky tvoří základ analytické metody pro měření reálných vzorků biomasy *Cannabis sativa* a pro hodnocení vlivu biostimulantu na tyto rostliny.

Extrudované škrob-xanthohumolové kompozity jako nový typ pivovarského surogátu a jejich vliv na vlastnosti sladin

Bc. Štěpán Hlavinka

M2

Ing. Lukáš Jelínek, Ph.D.

Tato práce využívá centrální kompozitní plán (CCD) pro návrh a přípravu 17 extrudovaných kompozitů na bázi škrobu a xanthohumolu (reaktivního chmelového polyfenolu s přínosy pro lidské zdraví), které se lišily vlhkostí, obsahem xanthohumolu a teplotou extruze. Vedle hodnocení reologických vlastností samotných kompozitů byly tyto materiály testovány jako pivovarský surogát při přípravě laboratorních sladin. Pro posouzení jejich technologického potenciálu byly u sladin stanoveny klíčové pivovarské parametry: obsah a složení sacharidů, koncentrace dusíkatých látek a xanthohumolu, viskozita a filtrovatelnost.

Výsledky ukázaly, že nejvýznamnějším faktorem ovlivňujícím vlastnosti sladin byl obsah xanthohumolu v kompozitech. Použití kompozitů ve všech případech zlepšilo filtrovatelnost oproti celosladové kontrole, aniž by došlo k výrazným změnám viskozity sladiny. Aplikace surogátů rovněž vedla ke snížení obsahu dusíkatých látek; statistická analýza zde sice prokázala negativní vliv xanthohumolu, avšak v rámci velmi úzkého rozpětí hodnot. Oproti celosladové várce vykazovaly testované sladiny nižší podíl zkvasitelných sacharidů a vyšší relativní zastoupení dextrinů podporujících plnost chuti. Tyto vlastnosti činí ze škrob xanthohumolových kompozitů slibný materiál pro výrobu nealkoholických piv.

Vliv přídavku kyseliny glutamové a extraktu z vinné révy na produkci GABA a obsah polyfenolů ve fermentovaném nápoji

Bc. Kateřina Čermáková

Ročník studia: M2

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

Kyselina γ-aminomáselná (GABA) je neproteinogenní aminokyselina působící jako hlavní inhibiční neurotransmiter v lidském organismu s řadou příznivých fyziologických účinků. Vzhledem k relativně nízkému obsahu GABA v běžných potravinách představují fermentované nápoje vhodnou matrici pro zvýšení jejího obsahu prostřednictvím mikrobiální fermentace. Významnými producenty GABA v potravinářství jsou bakterie mléčného kvašení, které prostřednictvím glutamátdekarboxylázového systému přeměňují kyselinu glutamovou na GABA.

V první fázi práce byl proveden screening 40 kmenů rodu *Lactobacillus* s cílem identifikovat kmeny s vysokou produkcí GABA. Jako jeden z nejproduktivnějších byl identifikován *Lactobacillus brevis* RIBM 2-78, který byl vybrán pro další experimenty. Tento kmen byl inokulován do dvou rozdílných nápojových matric – čaje Sencha a vinného moštu a kultivován 7 dní při 28 °C. V průběhu fermentace bylo pravidelně sledováno pH a hodnocena dynamika produkce GABA v závislosti na přídavku kyseliny glutamové a extraktu z vinné révy. Obsah GABA byl stanoven metodou UHPLCDAD po derivatizaci dansylchloridem. Současně byl sledován celkový obsah polyfenolů a antioxidační aktivita fermentovaných nápojů pro posouzení vlivu přídavků na produkci GABA i jejich potenciální funkční vlastnosti.

Vliv chemického charakteru netermálního plazmatu a stáří bakteriální kultury na metabolickou aktivitu a integritu buněčných membrán

Bc. Dominik Kabele

M1

prof. Ing. Irena Jarošová, Ph.D.

Globální šíření antibiotické rezistence podporuje hledání alternativních antimikrobiálních technologií, mezi něž patří také netermální plazma (NTP). Jeho biologické účinky jsou spojeny především s působením reaktivních forem kyslíku (ROS) a dusíku (RNS), které mohou ovlivňovat metabolické procesy i integritu buněčných membrán. Cílem práce bylo porovnat účinky dvou zdrojů NTP s převahou ROS nebo RNS na vybrané klinicky významné bakterie ze skupiny ESKAPE – Enterococcus faecium, Pseudomonas aeruginosa a Acinetobacter baumannii.
Bakteriální suspenze připravené z 24hodinových a 48hodinových kultur byly vystaveny různě dlouhému působení NTP. Po následné 24hodinové inkubaci byla hodnocena relativní metabolická aktivita metodou MTT a propustnost buněčných membrán pomocí fluorescenčního barvení propidium jodidem (PI).
Výsledky prokázaly výrazné rozdíly v odpovědi jednotlivých mikroorganismů v závislosti na typu plazmatu, délce expozice a stáří kultury. U E. faecium způsobovalo NTP s převahou RNS výraznější inhibici metabolické aktivity než NTP s převahou ROS. U P. aeruginosa byla pozorována nelineární odpověď membránové permeability, kdy nejvyšší fluorescence PI neodpovídala nejvýraznějšímu poklesu metabolické aktivity. U A. baumannii se vliv jednotlivých zdrojů NTP na propustnost buněčných membrán měnil v závislosti na stáří kultury.
Získané výsledky ukazují, že biologická odpověď bakterií na NTP je druhově specifická a závisí na chemickém charakteru plazmatu i fyziologickém stavu kultury. Současně potvrzují význam kombinace metabolických a membránových metod pro komplexnější hodnocení účinků plazmatem indukovaného stresu.

Fyziologické změny solventogenních klostridií vyvolané působením inhibitorů ze zpracování lignocelulosy

Bc. Anastasiia Blyzniuk

M1

doc. Ing. Barbora Branská, Ph.D.

Tato práce se zabývá studiem fyziologických změn solventogenních klostridií u kmene *Clostridium beijerinckii* NCIMB 8052, vyvolaných působením inhibitorů vznikajících při předúpravě lignocelulosové biomasy a produktů jejich biotransformace. Cílem této práce bylo posoudit vliv vybraných inhibitorů a jejich produktů na viabilitu buněk, růst kultury a průběh fermentačního metabolismu.

Kultura byla po dobu 3 hodin vystavena dvěma koncentracím kyseliny ferulové, kyseliny kumarové, furfuralu a jejich transformačních produktů (kyseliny hydroferulové, kyseliny floretové a furfurylalkoholu). Následně byla hodnocena viabilita a morfologie buněk pomocí průtokové cytometrie a mikroskopie, růst kultury, produkce metabolitů a spotřeba sacharidů.

Nejvýraznější pokles viability byl zaznamenán po působení furfurylalkoholu (1,5 g/l) a kyseliny kumarové (0,5 g/l). Působení testovaných látek vedlo rovněž ke změnám fermentačního metabolismu, zejména ke snížení produkce rozpouštědel, především acetonu a butanolu. Spotřeba glukosy byla ve většině případů snížena, zatímco využití xylosy vykazovalo variabilní charakter. Morfologie buněk ani optická densita kultury nebyly významně ovlivněny.

Výsledky ukazují, že inhibitory vznikající při zpracování lignocelulosové biomasy ovlivňují nejen viabilitu buněk, ale také metabolickou aktivitu a průběh solventogeneze. Negativní účinek však mohou vykazovat i produkty jejich biotransformace, přičemž nejvýraznější pokles viability byl pozorován u furfurylalkoholu.

Možnosti aplikace odpadního extraktu z Cannabis sativa v biologické ochraně rostlin

Bc. Vanessa Anna Müllerová

Ročník studia M2

Školitel Ing. Jana Michailidu Ph.D.

Práce se zabývá možnostmi využití odpadního extraktu z *Cannabis sativa* v biologické ochraně rostlin. Cílem práce je zhodnotit vliv extraktu na růst a metabolickou aktivitu vybraných bakterií, včetně buněk rostoucích v biofilmu.

Růst bakterií byl sledován pomocí systému Bioscreen C, baktericidní účinek byl ověřen kultivací na pevném médiu a metabolická aktivita biofilmu byla stanovena kolorimetrickou metodou.

Výsledky ukázaly, že extrakt inhibuje růst bakterií, přičemž u *Pseudomonas fulva* výraznější účinek projevil při koncentraci 200 mg_{GA}/l, zatímco u *Paenibacillus polymyxa* byl výrazný pokles růstu pozorován již od koncentrace 50 mg_{GA}/l. Přes inhibiční účinek nedošlo k úplné eliminaci bakteriálních buněk. Metabolická aktivita biofilmu nebyla při nižších koncentracích extraktu potlačena, naopak vykazovala tendenci ke zvýšení. Výsledky naznačují, že při vhodně zvolených koncentracích lze využít inhibičního účinku extraktu, aniž by došlo k úplné eliminaci testovaných bakterií.

Vplyv predextrakcie a procesných podmienok na účinnosť organosolvovej frakcionácie lignocelulózovej biomasy

Bc. Matúš Hacaj

M1

prof. Ing. Irena Jarošová, Ph.D.

Efektívne zhodnocovanie lignocelulózovej biomasy predstavuje jednu z kľúčových výziev udržateľných biorafinérií. Organosolvová frakcionácia umožňuje selektívne rozdeliť biomasu na frakcie obohatené o celulózu, hemicelulózu a lignín pomocou zmesi etanolu a vody. Cieľom práce bolo posúdiť vplyv predextrakcie, rýchlosti ohrevu a dĺžky chladenia na účinnosť frakcionácie ťažbových zvyškov ihličnatých drevín GROT. Frakcionácia prebiehala pri 200 °C počas 60 min v 60 % etanole bez katalyzátora v dvoch reaktoroch s pomalým a rýchlym ohrevom pri dobe chladenia 20, 40 a 60 min. Overovala sa hypotéza, že predĺžené chladenia podporuje rekondenzáciu lignínu a jeho zachytávanie na tuhej frakcii.

Predextrakcia zvýšila podiel celulózy v tuhej frakcii z 20–36 % na 43–54 % a podporila odstránenie hemicelulózy a lignínu. Kratšie chladenie prispelo k zachovaniu celulózovej zložky, zatiaľ čo pri nepredextrahovanej biomase v reaktore s pomalým ohrevom predĺženie chladenia znížilo účinnosť odstránenia lignínu zo 48 % na 26. Najúčinnejšia separácia bola dosiahnutá pri predextrahovanom GROT s pomalým ohrevom a 60-minútovým chladením. Izolovaný lignín vykazoval nízku molárnu hmotnosť (Mw 2 400–3 200 Da), bez výraznej závislosti od podmienok.

Celulózová frakcia bude hodnotená z hľadiska enzymatickej hydrolyzovateľnosti a fermentačných procesov.

Biotechnologie III

MÍSTO: učebna A12

KOMISE

prof. Ing. Karel Melzoch, CSc. (předseda)
doc. Ing. Barbora Branská, Ph. D.
Ing. Jana Michailidu, Ph. D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

Bc. Barbora Břešťálová (Mgr. 2. ročník)
Vliv moderních kvasinkových kmenů na tvorbu sekundárních metabolitů v průběhu pivovarské fermentace

Bc. Eliška Komancová (Mgr. 2. ročník)
Stanovení helikasové aktivity DHX15 ve virionech M-PMV: optimalizace experimentálních podmínek

Bc. Jan Zetek (Mgr. 2. ročník)
Využití aromatických rostlinných materiálů v pivovarnictví

Bc. Kateřina Poláková (Mgr. 2. ročník)
Vliv mikrobublin na kvasinkové buňky

Bc. Ondřej Dubecký (Mgr. 2. ročník)
Charakterizace kůry různých druhů citrusů a jejich aplikace během studené fáze výroby piva

Bc. Kateřina Štruplová (Mgr. 2. ročník)
Detekce polyproteinových prekurzorů Mason-Pfizerova opičího viru v subcelulárních frakcích

Bc. Petra Skořepová (Mgr. 2. ročník)
Degradace polyuretanů esterázami produkovanými mikromicetou Fusarium solani a kvasinkou Rhodotorula mucilaginosa

Bc. Alina Rudenko (Mgr. 2. ročník)
Ovocné polyfenoly ovlivňující hořkou chuť nápojů

Bc. Anna Riedlová (Mgr. 2. ročník)
Účinky netermálního plazmatu a klotrimazolu na biofilm Candida albicans: metabolická aktivita a morfologické změny

Vliv moderních kvasinkových kmenů na tvorbu sekundárních metabolitů v průběhu pivovarské fermentace

Bc. Barbora Břešťálová

M2

prof. Ing. Pavel Dostálek, CSc.

Charakter piva je výrazně ovlivňován metabolickou aktivitou kvasinek, které během kvašení tvoří, uvolňují a přeměňují řadu senzoricky aktivních látek. S rozvojem nových pivních stylů se v pivovarství uplatňují i moderní kmeny, které se od tradičních kvasinek liší.

Cílem práce bylo posoudit, jak se volba kvasinkového kmene promítne do obsahu a profilu chmelových silic, těkavých a karbonylových látek v pivu. Z jedné mladiny bylo připraveno osm pokusných piv lišících se pouze použitými kvasinkami. Vedle typických kmenů spodního a svrchního kvašení byly do výběru zařazeny také kvasinky maltózonegativní, kvasinky produkující kyselinu mléčnou a norské kvasinky kveik. Analýzy byly provedeny metodou HS-SPME-GC/MS.

Uhlovodíková frakce chmelových silic během kvašení téměř zcela vymizela nezávisle na použitém kmeni kromě piva zakvašeného Torulasporou delbrueckii, které prokvasilo minimálně. Kyslíkaté terpenoidy zůstaly v pivech z velké části zachovány a rozdíly mezi kmeny se projevily především v míře přeměny geraniolu na β-citronellol. Těkavé látky byly v mladině přítomny pouze stopově, mezi pivy se však jejich obsah lišil až o několik řádů. Nejvíce vyšších alkoholů a esterů vytvořil kmen Abbaye Belgian Ale, u kvasinek nezkvašujících maltózu byla jejich tvorba minimální. Obsah karbonylových sloučenin byl ve všech pivech srovnatelný a koncentrace většiny z nich během kvašení oproti mladině poklesla.

Stanovení helikasové aktivity DHX15 ve virionech M-PMV: optimalizace experimentálních podmínek

Bc. Eliška Komancová

M2

prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová

Mason-Pfizer opičí virus (M-PMV) se využívá jako modelový retrovirus pro studium molekulárních mechanismů replikace retrovirů. Významnou roli v retrovirových replikačních cyklech hrají interakce virových proteinů s buněčnými faktory. Pochopení mechanismů těchto interakcí by mohlo vést k identifikaci nových cílů pro potlačení virové replikace a optimalizaci terapeutických strategií. Jedním z kritických buněčných faktorů důležitých pro replikační cyklus M-PMV je RNA helikasa DHX15, která je inkorporována do nezralých virových částic. Tato inkorporace je řízena virovou G-patch doménou (GPD) a významně ovlivňuje funkci virové reversní transkriptasy (RT).
Cílem této práce byla optimalizace podmínek pro stanovení schopnosti buněčné DHX15, inkorporované do virionů, rozplétat dsRNA a posouzení vlivu virové G-patch domény a reversní transkriptasy na aktivitu DHX15. Využitím provirového vektoru pSARM, byly produkovány viriony divokého typu, a mutantní viriony s delecí RT nebo GPD. Bylo optimalizováno složení lyzačního pufru umožňujícího uvolnění virových a buněčných proteinů při zachování jejich funkční aktivity, a byly testovány podmínky reakce pro rozplétání dvouvláknové RNA (dsRNA). Pozornost byla také věnována minimalizaci nespecifického rozplétání dsRNA nezávislého na helikasové aktivitě. Optimalizace těchto podmínek představuje nezbytný krok k následnému stanovení aktivity DHX15 ve virových částicích a k objasnění její možné úlohy v replikačním cyklu M-PMV.

Využití aromatických rostlinných materiálů v pivovarnictví

Bc. Jan Zetek

M2

Ing. Tomáš Kinčl, Ph.D.

Rozvoj řemeslných pivovarů přinesl poptávku po inovacích a rozšiřování senzorického profilu piva. Snaha o nové chuťové profily vede mimo jiné k využití bylin, koření či dřevin, které se v historii běžně uplatňovaly při výrobě piva. Cílem této práce je prozkoumat možnosti využití rostlinných materiálů pro obohacení chuti i aroma a najít technologicky optimální způsob jejich aplikace do výroby.

V laboratorní fázi byl testován vliv různých extrakčních prostředí a koncentrací u devíti rostlinných surovin na jejich aromatický profil a senzorickou přijatelnost. Ze senzorické analýzy aroma vyšel jako nejperspektivnější materiál zázvor, který zaujal vyváženým profilem svěžích a štiplavých tónů, následovaný rozmarýnem a smrkovými výhonky.

Na základě těchto zjištění byla navržena technologie výroby piva s přídavkem zázvoru. Abychom ověřili jeho chování v praxi, byly vyrobeny várky s přídavkem v závěru chmelovaru a za studena během dokvašování ve dvou různých koncentracích. Následně byla provedena senzorická analýza těchto piv s cílem zhodnotit, jak fáze přídavku a dávka ovlivňuje senzorický profil, a nalézt ideální recepturu.

Vliv mikrobublin na kvasinkové buňky

Bc. Kateřina Poláková

Ročník studia: M2

Mikrobubliny představují perspektivní technologii pro aplikace v oblasti sanitace průmyslových systémů a potenciálního odstraňování mikrobiálních biofilmů. Jejich fyzikální vlastnosti jsou ovlivňovány konstrukcí generátoru a provozními podmínkami, což může ovlivnit jejich následné využití. Cílem práce je experimentálně porovnat dva generátory mikrobublin, CARMIN D2 PEEK (YLEC) a OK Nozzle (OK Engineering), z hlediska velikostní distribuce a rychlostního chování produkovaných bublin. Pomocí obrazové analýzy je hodnoceno zastoupení jednotlivých velikostních kategorií a závislost vypočtené rychlosti bublin na jejich velikosti. Současně je sledován vliv průtoku vzduchu v rozsahu 0–20 ml/min na velikostní distribuci u obou zařízení. Získaná data umožňují charakterizovat produkci mikrobublin při rozdílných konstrukčních řešeních a provozních podmínkách a posoudit rozdíly mezi oběma generátory. Výsledky této charakterizace tvoří základ pro navazující studium interakcí mikrobublin s kvasinkovými buňkami a pro posouzení jejich potenciálu při narušování mikrobiálních biofilmů jako alternativního přístupu ke konvenčním sanitačním metodám.

Charakterizace kůry různých druhů citrusů a jejich aplikace během studené fáze výroby piva

Bc. Ondřej Dubecký

M2

Ing. Marcel Karabín, Ph.D.

S ohledem na jejich využití v pivovarství jsou citrusové plody jednou z nejvýznamnějších skupin ovoce, která nachází stále větší uplatnění při výrobě ochucených alkoholických i nealkoholických piv a míchaných nápojů z piva. Kůra citrusů obsahuje široké spektrum terpenických sloučenin a její aplikace umožňuje dosažení citrusového aroma bez přídavku sacharidů či organických kyselin představujících riziko ovlivnění průběhu fermentace či chuti piva.
Cílem této práce bylo ověření použitelnosti metody GC-MS pro identifikaci a kvantifikaci terpenických látek silic kůry různých citrusů. Použitá metoda dosahovala velmi dobré opakovatelnosti (RSD < 10 rel. %). Kromě profilu silic charakteristického pro jednotlivé druhy citrusů bylo v sušené kůře zjištěno vyšší zastoupení kyslíkatých terpenických derivátů oproti kůře čerstvé, a naopak nižší obsah monoterpenů. Pro volbu dávkování citrusového materiálu do piva byl přestup těchto látek testován v modelových podmínkách. Celková míra přestupu byla následně porovnána s výsledky získanými HS-SPME GC-MS analýzou piv vyrobených s použitím stejných citrusových materiálů ve studené fázi výroby. Na základě senzorické analýzy byl potvrzen vliv citrusové kůry na výsledné aroma a chuť piva.

Detekce polyproteinových prekurzorů Mason-Pfizerova opičího viru v subcelulárních frakcích

Bc. Kateřina Štruplová

M2

Ing. Alžběta Dostálková, Ph.D.

Úspěšná tvorba infekční retrovirové částice uvnitř hostitelských buněk a následné kroky replikačního cyklu závisí na nespočtu interakcí jak mezi proteiny navzájem, ať už virovými či buněčnými, tak i mezi proteiny a RNA. Správné interakci předchází vhodná lokalizace a její přesné načasování, které je úzce spojeno s intracelulárním transportem virové RNA a proteinů. Studium jejich subcelulární lokalizace proto představuje důležitý krok k pochopení mechanismů regulujících sestavování retrovirových částic. V této práci byla navržena metoda subcelulární frakcionace buněk HEK293 umožňující spolehlivé oddělení cytosolické a jaderné frakce. Následně byla analyzována distribuce polyproteinových prekurzorů Mason-Pfizerova opičího viru pomocí imunochemické detekce. Pro detailní určení lokalizace virových proteinů uvnitř buněk byla do genu kódujícího polyprotein Pro úspěšně zavedena proteinová značka CLIP umožňující specifické fluorescenční značení virových polyproteinů a jejich následnou vizualizaci v živých buňkách. Systém založený na CLIP značení tak umožňuje sledování pohybu virových komponent v buňce, čímž přispívá k lepšímu pochopení mechanismů transportu virové RNA a sestavování nových virionů.

Degradace polyuretanů esterázami produkovanými mikromicetou Fusarium solani a kvasinkou Rhodotorula mucilaginosa

Bc. Petra Skořepová

M2

doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.

Polyuretany jsou významné syntetické polymery, jejichž odolnost vůči přirozenému rozkladu přispívá k tvorbě plastového odpadu. Jednou z alternativ k tradičnímu zpracování odpadního polyuretanu je biologická degradace pomocí živých organismů či izolovaných enzymů. Výhodou enzymatické degradace je vznik látek, které je možné průmyslově dále využít.
Mezi mikroorganismy studované z hlediska degradace plastů patří mikromyceta *Fusarium solani* a kvasinka *Rhodotorula mucilaginosa*. V této práci byly tyto organismy kultivovány na olivovém oleji, jakožto induktoru produkce esterolytických enzymů. Z kultivačního média byl následně získán preparát extracelulárních enzymů, jehož esterolytická aktivita byla studována s využitím chromogenního substrátu *p*-nitrofenol butyrátu. Cílem bylo určit vhodné pH a teplotu pro průběh enzymové reakce. Preparáty byly nejdříve podrobeny screeningovým testům a na základě jejich výsledků byl navržen centrální kompozitní design metodou Design of Experiments (40–60 °C, pH 4,5–9,2) pro určení vhodných podmínek reakční směsi.
Výsledky ukazují vyšší esterázovou aktivitu v alkalické oblasti a za zvýšené teploty.

Ovocné polyfenoly ovlivňující hořkou chuť nápojů

Bc. Alina Rudenko

M2

Ing. Lukáš Jelínek, Ph.D.

Polyfenolové látky přirozeně se vyskytující v ovoci jsou v dnešní době často součástí nealkoholických nápojů na bázi piva, kde mohou výrazně ovlivňovat jejich senzorické vlastnosti, zejména trpkost a hořkost. Cílem práce je charakterizovat hořkost vybraných ovocných polyfenolů v modelových roztocích z hlediska intenzity, charakteru, kulminace a doznívání a porovnat ji se všeobecně známou hořkostí chmelových iso-hořkých kyselin s ohledem na jejich potenciální využití v pivovarství.

V rámci práce byl sestaven a trénován patnáctičlenný senzorický panel zaměřený na rozpoznávání a hodnocení hořkosti polyfenolových látek, konkrétně naringinu (charakteristický citrusový polyfenol) a katechinu (široce rozšířený ovocný polyfenol). Součástí tréninku bylo rovněž rozpoznávání a hodnocení tradiční chmelové hořkosti (extrakt iso-hořkých kyselin).

Charakter hořkosti ovocných polyfenolů byl ve srovnání s chmelovým isoextraktem obecně vnímán jako jemný až vyrovnaný, zatímco chmelová hořkost vykazovala charakter vyrovnaný až drsný. V případě naringinu byl současně zaznamenán nepatrný rozdíl mezi intenzitou hořkosti vnímanou bezprostředně po polknutí a její maximální intenzitou (které bylo u většiny hodnotitelů dosaženo v rozmezí 5–10 sekund po polknutí). Dalším charakteristickým rysem naringinové hořkosti bylo její rychlejší odeznívání ve srovnání s chmelovou hořkostí.

Účinky netermálního plazmatu a klotrimazolu na biofilm Candida albicans: metabolická aktivita a morfologické změny

Bc. Anna Riedlová

M2

doc. Ing. Jarošová Irena, Ph.D.

Kvasinky rodu *Candida* patří mezi významné oportunní patogeny, jejichž schopnost tvorby biofilmu komplikuje léčbu infekcí a zvyšuje toleranci vůči antimykotikům. Jedním z alternativních přístupů k jejich inaktivaci je netermální plazma (NTP), jehož účinek souvisí především s tvorbou reaktivních kyslíkových a dusíkatých částic.
Cílem práce je porovnat účinky dvou typů NTP a posoudit potenciál jeho kombinace s klotrimazolem na biofilm *Candida albicans* ATCC MYA 2876. Biofilmy byly vystaveny NTP po dobu 5–40 minut a změny metabolické aktivity buněk byly hodnoceny metodou MTT. Klotrimazol byl testován ve třech koncentracích (0,25; 0,5 a 10 mg/l). Morfologie buněk a struktura biofilmu byly dále hodnoceny pomocí skenovací elektronové mikroskopie (SEM).
Dosavadní výsledky ukazují, že účinek NTP závisí na podmínkách ošetření, přičemž prodloužení expozice nemusí vždy vést k výraznějšímu poklesu metabolické aktivity. SEM umožňuje doplnit tyto poznatky o změny buněčné morfologie a organizace biofilmu. Kombinace NTP s klotrimazolem je zkoumána jako možný způsob zvýšení antifungální účinnosti.

Ústav biochemie a mikrobiologie (320)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

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

SEZNAM SEKCÍ

1. Bioinformatika a molekulární genetika
2. Imunologie a aplikovaná biochemie
3. Interakce v biologických systémech
4. Klinická biochemie
5. Mikrobiologie
6. Molekulární biologie
7. Odpověď biologických systémů na externí podněty
6. Produkce a charakterizace proteinů

SPONZOŘI - ÚSTAV BIOCHEMIE A MIKROBIOLOGIE























Bioinformatika a molekulární genetika

MÍSTO:

prostory ústavu 320

KOMISE:

doc. Ing. Petra Lovecká, Ph.D.

Ing. Jan Beránek

Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.

Ing. Pavel Vopálenský, Ph.D.

STUDENTI:

BC. DAVID PITR (M2, *prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.*)
Generative Machine-Learning Redesign of α-L-Fucosidase into a 2'-Fucosyllactose Transglycosidase via Active Site Desolvation

KAREL PŮBAL (B1, *prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D., doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D., Ing. Karolína Loužecká*)
Počítačový design umělých proteinů a jejich příprava

BC. LUKÁŠ RUML (M2, *Ing. Petr Svoboda Ph.D.)*
Konformačně skrytý jaderný lokalizační signál nikotinamidfosforibosyltransferasy: rozpor mezi krystalovými strukturami a mutagenezí

BC. JAKUB RYBA (M2, *Ing. Bára Křížkovská, Ph.D*.)
Tracing integrase evolution across virophages and polinton-like elements

BC. LOGINA SALEH (M2, *Prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.)*
Tunable inverse folding for protein stabilization

BC. MICHAL SKOTAR (M2, *doc. Ing. Mgr. Štěpánka Kučková, PhD*.)
Reference-Based Assessment of Proteomic LC–MS/MS data and Its Evaluation Against Traditional Machine-Learning Methods

Bc. Mikuláš Volek (M2, *Ing. Barbora Svobodová, Ph.D*.)
Genomická analýza a izolace vnějších membránových vezikul u bakterií *Cronobacter sakazakii*

Bc. Lada Zimermanová (M2, *prof. Ing. Bc. Ondřej Uhlík, Ph.D., Ing. Michal Strejček, Ph.D.*)
Vliv postupu zpracování amplikonových sekvencí genu pro 16S rRNA na analýzu prokaryotní diverzity

Generative Machine-Learning Redesign of α-L-Fucosidase into a 2'-Fucosyllactose Transglycosidase via Active Site Desolvation

Jméno: Bc. David Pitr

Ročník: M2

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

GH29 α-L-fucosidases natively hydrolyse glycosidic bonds but can be engineered to transfer fucose onto sugar acceptors, provided competing hydrolysis is suppressed. We target the synthesis of 2'-fucosyllactose (2'-FL), a human milk oligosaccharide, by fucosylating lactose. Since hydrolysis requires water access to the anomeric carbon, a successful transglycosidase must exclude solvent from the reaction centre. We redesigned α-L-fucosidase isoenzyme 1 using a generative machine-learning pipeline: RFdiffusion3 for backbone generation, a glycan-fine-tuned LigandMPNN for sequence design, and RoseTTAFold3 for structure prediction. The resulting designs feature a de novo acceptor region that maintains native catalytic geometry. A single second-shell substitution, R219V, was introduced to further exclude water. In triplicate 100 ns molecular dynamics simulations, the redesigned variant maintained a desolvated reaction centre, a 6-fold decrease in catalytic water molecules relative to the parent design. While the wild-type active site remains highly solvent-accessible, our design preserves a dry environment with the nucleophile poised for in-line attack, demonstrating the potential of generative AI for the precision engineering of transglycosidases.

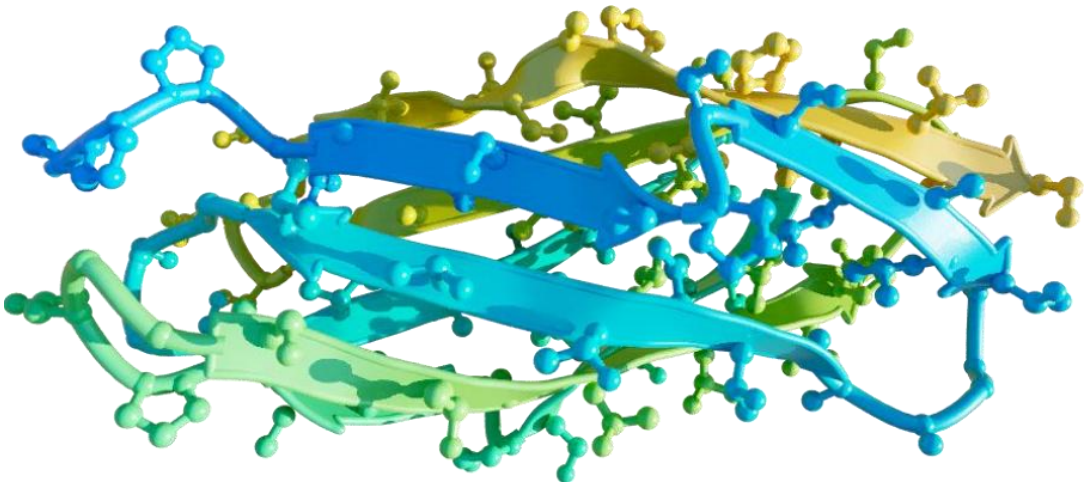
Počítačový design umělých proteinů a jejich příprava

Jméno: Karel Půbal

Ročník: B1

Školitel: prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D., doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D., Ing. Karolína Loužecká

Aminokyseliny byly do genetického kódu zařazovány postupně; deset z nich, prebioticky dostupných, patří k evolučně nejstarším. Zkoumali jsme, zda globulární strukturu proteinů umožní i abeceda omezená na tyto rané aminokyseliny. V UniProtu (253 mil. sekvencí) jsou proteiny s méně než 10 typy aminokyselin extrémně vzácné (0,012 %) a převážně bez globulární struktury. Modulem lm-design (ESM-2, ESMFold) jsme navrhli sto-reziduové proteiny pro všech 1 013 abeced o 2–10 raných aminokyselinách (Ala, Asp, Glu, Gly, Ile, Leu, Pro, Ser, Thr, Val). Návrhy z abeced o 2–5 typech aminokyselin tvořily hlavně helikální svazky, z abeced o 8–10 typech i α/β a β-bohaté struktury. Návrh LAGVSTDP z osmi typů aminokyselin jsme exprimovali v *E. coli* a cirkulárním dichroismem experimentálně potvrdili jeho βstrukturu; jeho Tm byla 30–40 °C a po denaturaci se již nerefoldoval. Návrhy ze šesti a čtyř typů se nepodařilo charakterizovat. Redesign (ProteinMPNNsol) dal variantu LAGVSTDP2 (69,7% identita, Tm 70–80 °C) schopnou refoldingu po zahřátí a ochlazení. Globulární proteiny tedy mohly vzniknout již v raných fázích evoluce.



Konformačně skrytý jaderný lokalizační signál nikotinamidfosforibosyltransferasy: rozpor mezi krystalovými strukturami a mutagenezí

Jméno: Bc. Lukáš Ruml

Ročník: M2

Školitel: Ing. Petr Svoboda Ph.D.

Nikotinamidfosforibosyltransferasa (NAMPT), klíčový enzym syntézy NAD+ má funkci také v buněčném jádru. Mechanismus jejího jaderného transportu však není znám. Předchozí mutageneze označila motiv 424RSKK za možný jaderný lokalizační signál, protože jeho substituce transport ruší.

Strukturní analýza 11 dostupných krystalových struktur NAMPT ale ukazuje paradox: ačkoliv oblast K423–R429 zaujímá konformaci odpovídající jadernému lokalizačnímu signálu vázanému na importin α, je v dosud vyřešených strukturách proteinu stericky nedostupná. Zhruba 74 % povrchu tohoto motivu je zanořeno v samotné doméně NAMPT a dimerizace NAMPT jeho dostupnost ještě více snižuje. Aby se importin α mohl navázat, muselo by dojít k lokálnímu rozbalení struktury NAMPT. Zanoření konzervovaného G428 navíc naznačuje, že tento zbytek může přispívat spíše ke strukturní stabilitě NAMPT než k přímému rozpoznání importinem. Naopak jiný potenciální motiv 50RKVK, jehož substituce transport neovlivňuje, není ve strukturách modelován vůbec.

Účinek substituce 424RSKK tak může být nepřímý, například prostřednictvím změny stability či konformace NAMPT. Výpočetní predikce interakcí s kandidátními importiny nepřinesly přesvědčivý důkaz specifického rozpoznání motivu. Dalším krokem bude studium konformační dynamiky NAMPT.

Tracing integrase evolution across virophages and polinton-like elements

Jméno: Bc. Jakub Ryba

Ročník: M2

Školitel: Ing. Bára Křížkovská, Ph.D.

Virophages are small dsDNA viruses that replicate only when co-infecting giant viruses. Some, including Mavirus, integrate into the host nuclear genome. Mavirus DNA is covalently linked to a terminal protein (TP), encoded within a protein-primed DNA polymerase B (pPolB). AlphaFold predicts that TP interacts with the Mavirus retrovirus-like integrase, potentially promoting DNA docking and integration. Although this machinery is common in DNA elements like Polintons, the rapid evolution of these proteins makes their phylogeny - and thus their interaction - difficult to reconstruct reliably.

To address this, we build an integrase phylogeny pipeline using Pfam-based catalytic-core detection, multiple alignment strategies, and maximum-likelihood inference with alignment-specific substitution models. Trees from full-length proteins and catalytic cores recover well-supported virophage- and polinton-like integrase clades. Notably, domain trimming alters tree topology, implying flanking non-catalytic regions carry distinct evolutionary signal. This framework extends the hypothesis of Mavirus interaction across the family and enables tests of integrase–polymerase co-evolution. Parallel pPolB analyses will compare evolutionary histories and assess conservation of TP-integrase interaction.

Tunable inverse folding for protein stabilization

Jméno: Bc. Logina Saleh

Ročník: M2

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

Protein stability and solubility are major challenges in recombinant protein production. This project combined experimental characterisation of Mason–Pfizer monkey virus (M-PMV) reverse transcriptase (RT) with computational protein redesign. Full-length RT and an RNase H-deleted variant (RTΔH) were cloned into expression vectors and expressed in E. coli. Expression was screened across bacterial strains, followed by purification using affinity and size-exclusion chromatography. Proteins were analysed by Western blotting and reverse transcriptase activity assays. Limited homogeneity and activity highlighted the need for optimisation. Consequently, we developed an ESM2-guided design workflow by incorporating residue-level biases into SolubleMPNN. ESM2 biases preserve conserved positions, while SolubleMPNN optimises other residues for stability. The effect of bias coefficients (−20 to −2.5) on sequence recovery was evaluated across five proteins, with 50 sequences generated per condition. Recovery generally increased as coefficients became less negative, reaching its highest values at −2.5. These findings demonstrate the influence of ESM2 bias on sequence design and establish a basis for applying computational redesign to improve M-PMV RT stability and solubility.

Reference-Based Assessment of Proteomic LC–MS/MS data and Its Evaluation Against Traditional Machine-Learning Methods

Jméno: Bc. Michal Skotar

Ročník: M2

Školitel: doc. Ing. Mgr. Štěpánka Kučková, PhD.

Collagenous materials are a common source of data in forensic and archaeological investigations. These investigations have historically relied on morphological assessment, as well as on genomic analyses. However, over long time scales, DNA is prone to degradation and/or chemical alterations. In recent years, the analysis of collagenous materials has increasingly come to rely on LC-MS/MS methods to characterise biological samples due to collagen's superior stability in degraded materials compared to DNA. However, the high frequency of post-translational modifications (PTMs) necessitates development of specialized evaluation algorithms. This research proposes a novel qualitative framework designed to process PTM-rich materials, utilizing a creation of reference library, termed ProtFlow. Additionally, three common machine-learning algorithms were implemented and, alongside ProtFlow, evaluated on leather, bone, and edible insect samples, to investigate whether a qualitative algorithm could offer an equivalent performance as quantitative, computationally intensive methods. We found that our novel approach offered a similar accuracy to machine-learning models while providing significantly faster processing times, both at the level of species and of individual replicates.

Genomická analýza a izolace vnějších membránových vezikul u bakterií Cronobacter sakazakii

Jméno: Bc. Mikuláš Volek

Ročník: M2

Školitel: Ing. Barbora Svobodová, Ph.D.

Bakterie druhu *Cronobacter sakazakii* jsou gramnegativní oportunní patogeny ohrožující zejména novorozence a imunokompromitované jedince, u nichž způsobují závažné meningitidy a nekrotizující enterokolitidy. Podobně jako jiné gramnegativní bakterie jsou i tyto schopny tvořit vnější membránové vezikuly (OMV), jejichž mechanismy vzniku a účinku jsou však u druhu *C. sakazakii* dosud velmi málo prozkoumány. Cílem této práce je charakterizovat genetickou variabilitu vybraných genů potenciálně souvisejících s produkcí OMV u *C. sakazakii* a současně ověřit postup jejich izolace. Pro analýzu byly vybrány geny s různými mechanismy účinku, které ovlivňují tvorbu OMV u jiných gramnegativních bakterií. Zastoupení identifikovaných alel bylo hodnoceno ve vztahu k sekvenčním typům jednotlivých izolátů, z nichž některé jsou spojovány s vyšší klinickou významností *C. sakazakii*. Současně byl ověřován postup izolace OMV z bakterií *C. sakazakii*. Vezikuly se podařilo izolovat, pro dosažení reprodukovatelných a vzájemně porovnatelných výtěžků je nutné dále zpřesnit podmínky kultivace a izolace. Tato práce tak propojuje genomickou analýzu potenciálních faktorů ovlivňujících produkci OMV s experimentálním zavedením jejich izolace a vytváří základ pro další studium variability tvorby OMV u *C. sakazakii*.

Vliv postupu zpracování amplikonových sekvencí genu pro 16S rRNA na analýzu prokaryotní diverzity

Jméno: Bc. Lada Zimermanová

Ročník: M2

Školitel: prof. Ing. Bc. Ondřej Uhlík, Ph.D., Ing. Michal Strejček, Ph.D.

Práce se zabývá modifikací postupu zpracování amplikonových dat genu pro 16S rRNA v nástroji DADA2 a jejím vlivem na výsledky analýzy prokaryotní diverzity. Na volbě postupu přitom mohou záviset hodnoty diverzitních indexů i taxonomické složení společenstev. Standardní postup v DADA2 provádí korekci sekvenačních chyb forward a reverse čtení odděleně a spojuje je až v závěru; alternativou je nejprve párová čtení spojit, s předchozí filtrací a ořezem čtení nebo bez nich, aby do samotného algoritmu DADA2 vstupovaly již spojené sekvence. Výhodou spojení předem může být vyšší kvalita sekvencí v oblasti překryvu, nevýhodou naopak ztráta čtení, která se spojit nepodaří. Cílem práce je tyto postupy porovnat na datech z platformy Illumina MiSeq, a to na umělé komunitě o známém složení a na vzorcích různé komplexity (půda a rostlinná pletiva, podzemní minerální voda). Hodnocen je podíl zachovaných čtení, počet amplikonových sekvenčních variant (ASV), rozdíl taxonomického složení a alfa diverzita (Shannonův a Simpsonův index); u umělé komunity také shoda se známým složením. Výsledky ukazují, nakolik volba postupu ovlivňuje závěry studií prokaryotní diverzity.

Imunologie a aplikovaná biochemie

MÍSTO:

prostory ústavu 320

KOMISE:

doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.

doc. Dr. Ing. Zuzana Novotná
Ing. Barbora Svobodová, Ph.D.
Ing. Michal Strejček, Ph.D.

STUDENTI:

BC. POLINA AVDEEVA (M2, *doc. Ing. Lenka Burketová, CSc.*)
Odhalení mechanismů obranných reakcí rostlin aktivovaných rozpadem aktinového cytoskeletu

BC. ZUZANA FABIČOVIČOVÁ (M2, *doc. Ing. Barbora Holubová Ph.D.*)
Vývoj imunochromatografického testu pro detekci kratomu

BC. ADÉLA HINTERHOLZOVÁ (M2, *doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D.*)
Vývoj imunochromatografického testu pro detekci benzodiazepinů v nápojích

BC. IRENA KUBIŠTOVÁ (M2, *doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D.*)
Izolace stanozololu z doplňků stravy s využitím preparativních analytických metod

BC. ANNA MARKOVÁ (M2, *doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D.; Mgr. Maja Šeovićová*)
Přechod od *in vivo* k *in vitro* produkci monoklonální protilátky pomocí hybridomové technologie

BC. BARBORA SOMMEROVÁ (M2, *Ing. Tereza Leonhardt, Ph.D.*)
Vývoj transformační platformy pro biotechnologické využití houby *Pleurotus calyptratus*

Bc. Iveta Váňová (M2, *Ing. Jablonská Eva, Ph.D.*)
Ověření funkčnosti primerů specifických pro mitochondriální DNA za účelem druhové identifikace kočkovitých šelem

Bc. Adéla Zoubková (M2, *doc. Ing. Mgr. Štěpánka Kučková, Ph.D.*)
Ověřování deklarace čerstvosti ryb pomocí proteomické analýzy

Odhalení mechanismů obranných reakcí rostlin aktivovaných rozpadem aktinového cytoskeletu

Jméno: Bc. Polina Avdeeva

Ročník: M2

Školitel: doc. Ing. Lenka Burketová, CSc.

Konzultanti: Mgr. Tetiana Kalachova, Ph.D., Ing. Radek Vítek

Rostliny a patogeny vedou neustálý evoluční boj. Jednou z imunitních reakcí rostliny je reorganizace aktinového cytoskeletu směrem k místu napadení. Některé patogeny se naučily aktinový cytoskelet narušit. Rostlina však dokáže toto poškození rozpoznat jako varovný signál a spustit alternativní imunitní odpověď. Přesný molekulární mechanismus této signalizace však zůstává neobjasněn. Práce navazuje na výsledky celogenomové asociační studie, testující odpověď rostlin *Arabidopsis thaliana* na latrunkulin B – látku depolymerizující aktin. Výsledkem studie bylo 9 kandidátních genů potenciálně důležitých pro spouštění imunity po působení LatB. V této práci byly dané geny ověřovány testováním mutantních T-DNA linií. Hodnocena byla jak indukovaná rezistence vůči patogenu *Pseudomonas syringae* pv. *tomato DC3000*, tak míra buněčné smrti po aplikaci LatB. Výsledkem byl výběr 5 genů (*MLP168, MAC, PDLP5, FMOGS-OX7 a ADF5*). Na tyto výsledky navazuje sestavování genetických konstruktů pro ověření jejich funkcí. Připravovány jsou konstrukty s C-terminální fúzí těchto proteinů s GFP, ověřované restrikční analýzou a sekvenací. Dále poslouží k analýze subcelulární lokalizace v *Nicotiana benthamiana* a k funkční komplementaci deficientních mutantů pro potvrzení jejich role v rostlinné imunitě.

Vývoj imunochromatografického testu pro detekci kratomu

Jméno: Bc. Zuzana Fabičovičová

Ročník: M2

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

Kratom (*Mitragyna speciosa*) je dřevina rostoucí v jihovýchodní Asii, obsahující více než 50 různých alkaloidů. Stejnojmenným názvem se označuje prášek ze sušených listů této rostliny, který v dnešní době představuje atraktivní rekreační drogu. Hlavním účinným alkaloidem kratomu je mitragynin. Budování tolerance, abstinenční syndrom nebo kombinace s jinými návykovými látkami však představují významná rizika, zejména s ohledem na nízký věk značné části uživatelů. Cílem této práce je vývoj rychlé terénní metody pro detekci mitragyninu v lidských slinách, pro užití např. během silničních kontrol. Komerční imunoreagencie v počátku vývoje nebyly dostupné, z toho důvodu byly ve spolupráci s firmou DIANA získány a následně přečištěny vlastní polyklonální protilátky proti mitragyninu (PL1837). Dále byly syntetizovány imobilizační konjugáty mitragyninu s BSA (MTRG-BSA). Funkčnost těchto reagencií byla ověřena metodou ELISA. Připraven byl také konjugát zlatých nanočástic a sekundární protilátky (GAR-Au), se kterým byl sestaven kompetitivní imunochromatografický test. V otevřeném formátu byla sestavena kalibrační řada a určen vizuální detekční limit pro mitragynin. Další postup bude zahrnovat přechod do uzavřeného formátu a přizpůsobení testu matrici slin.

Vývoj imunochromatografického testu pro detekci benzodiazepinů v nápojích

Jméno: Bc. Adéla Hinterholzová

Ročník: M2

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

Drink spiking představuje závažný společenský problém, který spočívá v úmyslném podání omamných látek do nápoje bez vědomí oběti. Motivy drink spikingu mohou být různé, nejčastěji však směřují k omámení a oslabení oběti za účelem spáchání loupeže, znásilnění či jiného druhu násilí. Pachatelé k těmto účelům často zneužívají benzodiazepiny (BZD). Jedná se o skupinu léčiv působící na centrální nervovou soustavu, která se využívá především při léčbě úzkostí a nespavosti. Na trhu existují komerční kolorimetrické testy pro detekci BZD v nápojích, jejichž testování v rámci tohoto projektu však odhalilo, že neposkytují spolehlivé výsledky. Cílem této práce je tak vyvinout kompetitivní imunochromatografický test (ICT) pro rychlou a spolehlivou detekci BZD v alkoholických i nealkoholických nápojích. Během vývoje byly testovány imunoreagencie od různých výrobců. S vybranou specifickou monoklonální protilátkou a imobilizačním konjugátem byl sestaven ICT pro detekci oxazepamu v otevřeném formátu. Vizuální detekční limit byl určen na 2,5 ng ml^{-1}. Dále bude ICT převeden do uzavřeného formátu a bude testován vliv reálných matric. Současně bude do vývoje zahrnuta i polyklonální protilátka, se kterou bude sestaven ICT pro detekci širšího spektra BZD.

Izolace stanozololu z doplňků stravy s využitím preparativních analytických metod

Jméno: Bc. Irena Kubištová

Ročník: M2

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

Stanozolol patří mezi syntetické anabolické androgenní steroidy, jehož anabolický efekt bývá nelegálně zneužíván k dopingu či skryté adulteraci doplňků stravy. Vzhledem k přísné regulaci Světové antidopingové agentury (WADA) a zdravotním rizikům představuje spolehlivá detekce v komplexních matricích klíčový analytický problém. Jeho detekci komplikuje nízká koncentrace analytu v biologických vzorcích i možnost výskytu v kontaminovaných produktech s komplexní matricí. Cílem této práce je navrhnout a ověřit ucelený postup pro izolaci, přečištění a detekci stanozololu z doplňků stravy. V rámci experimentální části byla zavedena vhodná extrakce vzorku ethanolem za využití ultrazvuku, detekce tenkovrstvou chromatografií (TLC) pro rychlou kontrolu a ověřeny možnosti přečištění vzorku extrakcí na pevné fázi (SPE). Pro instrumentální stanovení byla úspěšně provedena derivatizace (acetylace) vedoucí ke vzniku stanozolol-acetátu, který byl následně detekován plynovou chromatografií s hmotnostní spektrometrií (GC-MS). Navržená strategie přispívá k lepší čistotě vzorků před finální analýzou a otevírá cestu k propojení s imunochemickými metodami (ELISA) a preparativními technikami pro posouzení původu látky (GC-C-IRMS, AMS).

Přechod od in vivo k in vitro produkci monoklonální protilátky pomocí hybridomové technologie

Jméno: Bc. Anna Marková

Ročník: M2

Školitel: doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D.; Mgr. Maja Šeovićová

Imunochemické testy představují významný nástroj diagnostiky a umožňují citlivou a specifickou detekci řady biologicky významných analytů. Zatím nejčastější metodou přípravy monoklonálních protilátek, které jsou v imunochemických soupravách využívány, je produkce pomocí hybridomů. Přestože *in vivo* produkce poskytuje vysoké výtěžky, je snaha využívání zvířat z etických důvodů nahrazovat *in vitro* metodami. Cílem této práce je přechod od *in vivo* k *in vitro* produkci monoklonální protilátky proti kortizolu s využitím hybridomové technologie a následné ověření její využitelnosti v imunochemické soupravě pro stanovení tohoto hormonu.

Hybridomy byly kultivovány v suspenzním růstovém médiu. Protilátka byla ze supernatantu separována pomocí kapalinové chromatografie na koloně s proteinem A. Takto získaná protilátka byla imobilizována na zkumavky, na kterých byly následně provedeny první kalibrační a korelační testy. Zkumavky s imobilizovanou protilátkou z *in vitro* produkce zpočátku vykazovaly horší parametry kalibrační křivky v porovnání s *in vivo* získanou protilátkou. Po úpravě separačního protokolu došlo k výraznému zlepšení parametrů i výtěžku a nejlepších výsledků bylo dosaženo s imobilizační koncentrací 0,1 µg/ml. Dále bude ověřována dlouhodobá stabilita soupravy i samotné protilátky.

Vývoj transformační platformy pro biotechnologické využití houby Pleurotus calyptratus

Jméno: Bc. Barbora Sommerová

Ročník: M2

Školitel: Ing. Tereza Leonhardt, Ph.D.

Makromycety produkují řadu potenciálně léčivých molekul, jejichž získávání však může komplikovat náročná kultivace některých druhů hub. Alternativou je využití organismů s vhodným enzymatickým aparátem. Houby rodu *Pleurotus* jsou díky zavedenému průmyslovému pěstování a schopnosti růstu na lignocelulózových odpadech perspektivními organismy pro nízkonákladovou produkci biologicky významných látek. Jejich využití však limituje nedostatek optimalizovaných metod genetické transformace. Běžně používaná transformace zprostředkovaná bakterií *Agrobacterium tumefaciens* (ATMT) může být omezena velikostí vnášených konstruktů a zkracováním T-DNA. Tato práce se proto zaměřuje na vývoj a optimalizaci přímé transformační metody pro houbu *Pleurotus calyptratus*, zahrnující izolaci protoplastů z mycelia pomocí lytických enzymů a sestavení reportérového konstruktu pHg-pSILBAγ-*mCherry* pro samotnou transformaci. Výsledkem bude transformační metoda nezávislá na ATMT, umožňující vnášení rozsáhlých genetických konstruktů do genomu hub rodu *Pleurotus*, což otevře dveře jejich budoucímu využití při produkci významných látek.

Ověření funkčnosti primerů specifických pro mitochondriální DNA za účelem druhové identifikace kočkovitých šelem

Jméno: Bc. Iveta Váňová

Ročník: M2

Školitel: Ing. Jablonská Eva, Ph.D.

Kočkovité šelmy, jimiž je například tygr nebo lev, bývají často obětmi pytláctví a pašování, což představuje značné riziko pro přežití jejich populací. Biologický materiál z takto nelegálně získaných zvířecích jedinců bývá značně poškozen či upraven, což může značně ztížit identifikaci pomocí fyziologických markerů a musí se přistoupit k identifikaci na úrovni DNA. Cílem práce bylo ověřit, zda lze z náročných vzorků (zvířecí chlupy a zuby) izolovat DNA v dostatečné kvalitě a v takovém množství, aby se bylo možné následně pokusit o druhovou identifikaci. Využity byly konvenční PCR, qPCR a dPCR s kvantifikačními univerzálními primery a primery specifickými pro lidskou mtDNA pro zjištění kontaminace. Nejprve byla ověřena efektivita a vhodnost primerů, které byly následně použity při testování izolátů DNA z testovacího zubu neznámého původu. Výsledky ukázaly, že DNA se podařilo izolovat a následně kvantifikovat. Primární účel primerů byla kvantifikace, ale na základě našich zjištění i literatury použity i jako identifikační (se sekvenačními přesahy M13). Zub neznámého původu, se takto podařilo identifikovat jako kravský. Zároveň se podařilo úspěšně sekvenovat izoláty chlupů tygra ussurijského a tím potvrdit použitelnost našeho uspořádání i pro kočkovité šelmy.

Ověřování deklarace čerstvosti ryb pomocí proteomické analýzy

Jméno: Bc. Adéla Zoubková

Ročník: M2

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

Ryby a mořské plody patří mezi významné potravinářské komodity, které jsou vzhledem ke složitosti dodavatelského řetězce, vysoké poptávce a rozmanitosti druhů obzvláště náchylné k potravinovým podvodům. Konkrétním příkladem je deklarování rozmrazených ryb jako čerstvých, přičemž se přímo porušuje nařízení (EU) č. 1379/2013 vyžadující doplňující informaci „rozmrazeno“ u názvu. Ačkoliv je zmrazování běžnou metodou dlouhodobé konzervace, proces zmrazování a následného rozmrazování může vést k nevratným změnám struktury a funkčních vlastností proteinů, a tím ovlivnit kvalitu i bezpečnost potravin. Cílem práce bylo ověřit deklarovanou čerstvost lososa obecného (*Salmo salar*) pomocí proteomické analýzy svaloviny a tekutiny uvolněné při rozmrazování. Čerstvé vzorky byly porovnány se vzorky zmrazenými při −18 °C po dobu 3 a 12 měsíců a následně rozmrazenými při pokojové teplotě po dobu 2 h. Data získaná hmotnostní spektrometrií MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization – Time of Flight) byla vyhodnocena diskriminační analýzou částečných nejmenších čtverců (PLS-DA). Dalším krokem je identifikace proteinových biomarkerů pro rozlišení čerstvých a zmrazených/rozmrazených ryb metodou LC-timsTOF MS (Liquid Chromatography – Trapped Ion Mobility Spectrometry – Time of Flight).

Interakce v biologických systémech

MÍSTO:

prostory ústavu 320

KOMISE:

doc. Ing. Barbora Holubová, Ph.D.

Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.
Ing. Václav Peroutka, Ph.D.
Ing. Tomáš Podzimek, Ph.D.

STUDENTI:

PAVEL JAN LINKA (B3, *Ing. Michaela Marková, Ph.D., Sebastian Schindler, M.Sc.*)
Structural Basis of Grp94 Interaction with Co-Chaperones MZB1 and CNPY3

BC. VERONIKA LIŠKOVÁ (M2, *Ing. Nikola Vrzáčková, Ph.D.*)
Characterization of KANK3 in human endothelial cells

BC. ADÉLA MATYÁŠOVÁ (M2, *prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.*)
Single-step in vitro selection of DNAzyme sensors for APOBEC3A

BC. JAKUB MIŠKOVSKÝ (M2, *prof. Ing. Peter Šebo, CSc.*)
Molekulární mechanismus modifikace mastnou kyselinou u RTX proteinů

BC. DOMINIKA ŠANTRŮČKOVÁ (M2, *Ruml Tomáš prof. Ing. CSc.*)
Charakterizace vazby matrixového proteinu HIV-1 s modelovou membránou pomocí průtokové cytometrie

BC. KAMILA ŠIMČÍKOVÁ (M2, *Ing. Nikola Vrzáčková, Ph.D.*)
Studium protein-protein interakcí enzymu nikotinamidfosforibosyltransferasy

NELA ŠINDELÁŘOVÁ (B3,)
Spectral Characterization and Maturation Kinetics of Fluorescent Protein Timers in *Nicotiana benthamiana*

Bc. Barbora Šmídková (M2, *Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.*)

Dvoukrokové fluorescenční značení proteinů s využitím enzymu sortasa a „click“ reakce

Structural Basis of Grp94 Interaction with Co-Chaperones MZB1 and CNPY3

Jméno: Pavel Jan Linka

Ročník: B3

Školitel: Ing. Michaela Marková, Ph.D., Sebastian Schindler, M.Sc.

The molecular chaperone Grp94, the endoplasmic reticulum paralogue of Hsp90, plays an essential role in protein folding and quality control. Despite its biological significance, the structural organization and molecular mechanisms governing Grp94 interactions with its client-selective co-factors, MZB1 and CNPY3, remain poorly understood.

We investigated the Grp94:co-factor assembly using a structural and biophysical pipeline combining nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy, isothermal titration calorimetry (ITC), and electrospray ionization mass spectrometry (ESI-MS). Host strains were screened to achieve robust recombinant expression, purification and disulfide bridge formation of all target proteins.

ESI-MS revealed that expression in *E. coli SHuffle* achieves native-like disulfide bridge formation in both co-factors. Using NMR, we found that the co-factors share an overlapping binding interface within the Grp94 middle domain (MD). Complementary ITC revealed low-micromolar affinities with enthalpy-driven (CNPY3) and entropy-driven (MZB1) thermodynamic profiles governing the interactions.

Together, these findings define key molecular aspects of Grp94 co-factor recognition and establish an optimized platform for high-resolution structural determination.

Characterization of KANK3 in human endothelial cells

Jméno: Bc. Veronika Lišková

Ročník: M2

Školitel: Ing. Nikola Vrzáčková, Ph.D.

Endothelial cells form a monolayer lining the inner surface of blood vessels and play a key role in regulating vascular homeostasis, coagulation, inflammation, and blood pressure. Human umbilical vein endothelial cells (HUVECs), primary cells isolated from human umbilical cords, were used to investigate the role of KANK3 (KN motif and ankyrin repeat domain-containing protein 3) in endothelial cells.

Under physiological conditions, endothelial cells are continuously exposed to blood flow. To investigate the effects of flow on KANK3, HUVECs were cultured under static conditions and under flow using an ibidi pump system. KANK3 mRNA expression was higher under flow than under static conditions. Flow also increased the number of KANK3 clusters and affected their localization. These clusters appeared to be associated with vinculin-rich focal adhesions, suggesting a potential colocalization of KANK3 and vinculin.

KANK3 knockdown led to a reduction of KANK3 clusters and increased cell migratory capacity. Next, KANK3 depletion was associated with increased tissue factor (TF) levels, especially in cells treated with tumor necrosis factor (TNF). These findings suggest that KANK3 may play an important role in endothelial cell function and TF regulation during inflammation and thrombosis.

Single-step in vitro selection of DNAzyme sensors for APOBEC3A

Jméno: Bc. Adéla Matyášová

Ročník: M2

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

Over the past decades, researchers have developed functional DNA molecules such as aptamers and deoxyribozymes (DNAzymes) using methods of *in vitro* selection. Aptamers can be engineered to bind specific targets, and DNAzymes to catalyze reactions, thereby substantially expanding DNA´s practical applications. In diagnostics, DNAzymes are of particular interest as some of them can generate a detectable signal in response to specific levels of disease-related biomarkers, while remaining inexpensive, easy to synthesize and handle. Promising targets for such sensors are DNA editing enzymes such as APOBEC3A, a cytidine deaminase associated with mutagenesis in certain cancers. To detect this enzyme, our laboratory has previously used rational design to develop a turn-ON and a turn-OFF sensor based on Supernova, a DNAzyme discovered in our group that catalyzes a chemiluminescent reaction with the substrate CDP-Star. As these sensors were identified using rational design instead of selection, they might not be optimal. In this project, we will therefore apply single-step *in vitro* selection to a library of ~10^7 unique sequences to identify an APOBEC3A sensor with a higher signal-to-background ratio and, ideally, faster signal generation than those previously developed in our laboratory.

Molekulární mechanismus modifikace mastnou kyselinou u RTX proteinů

Jméno: Bc. Jakub Miškovský

Ročník: M2

Školitel: prof. Ing. Peter Šebo, CSc.

Adenylátcyklasový toxin (CyaA) je prototypickým zástupcem rodiny Repeats-in-ToXin proteinů gramnegativních bakterií a významným faktorem virulence bakterie *Bordetella pertussis*, původce černého kašle. Produktivní interakce CyaA s cílovou membránou vyžaduje acylaci dvou lysinových zbytků (K860 a K983) mastnou kyselinou v bakteriálním cytosolu a následnou vazbu vápenatých iontů na RTX doménu po sekreci toxinu ven z bakterie. Modifikaci mastnou kyselinou zprostředkovává specifická RTX acyltransferasa CyaC, která modifikuje oba lysinové zbytky převážně palmitovou (C16:0) a palmitoolejovou (C16:1) kyselinou. Testovali jsme hypotézu, že CyaC rozpoznává lineární sekvenci acylovaného segmentu, nikoli jeho nativní terciární strukturu. Do přirozeně neacylovaného RTX proteinu FrpC z *Neisseria meningitidis* jsme proto vložili různě dlouhé fragmenty segmentu CyaA z okolí K983. Postupným zkracováním jsme identifikovali nejkratší sekvenci rozpoznávanou CyaC, tzv. acylační značku. Její schopnost zprostředkovat acylaci cytosolických proteinů jsme následně ověřili fúzí s fluorescenčními proteiny GFP a iLOV. Acylaci fúzních proteinů jsme analyzovali hmotnostní spektrometrií a jejich schopnost interagovat s membránou pomocí fluorescenční mikroskopie a kombinací ultracentrifugace a Western blotu.

Charakterizace vazby matrixového proteinu HIV-1 s modelovou membránou pomocí průtokové cytometrie

Jméno: Bc. Dominika Šantrůčková

Ročník: M2

Školitel: Ruml Tomáš prof. Ing. CSc.

Cílem práce je charakterizovat interakci matrixového proteinu HIV-1 s modelovými membránami reprezentovanými liposomy pomocí průtokové cytometrie.

Inzert kódující matrixový protein HIV-1 i vektor nesoucí gen pro GFP byly amplifikovány pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR). Následně byl inzert vpraven do vektoru metodou Gibson Assembly. Po transformaci kompetentních bakteriálních buněk a jejich kultivaci byl fúzní protein purifikován afinitní chromatografií na Ni-NTA agarose.

Modelové liposomy byly připraveny metodou extruze a následně inkubovány s koncentrační řadou purifikovaného proteinu. Reakční směs byla následně separována flotací v sacharosovém gradientu pomocí ultracentrifugace. Tento krok se ukázal jako nezbytný pro eliminaci nespecifických interakcí mezi GFP značkou a liposomy, které při přímé analýze vedou k falešně pozitivním výsledkům. Jednotlivé frakce odebrané z gradientu byly následně analyzovány průtokovou cytometrií.

Zavedená metodika umožňuje specificky studovat interakci matrixového proteinu HIV-1 s modelovými membránami a posoudit její závislost na koncentraci proteinu. Zároveň může sloužit jako univerzální metoda pro studium interakcí membránově vázaných proteinů.

Studium protein-protein interakcí enzymu nikotinamidfosforibosyltransferasy

Jméno: Bc. Kamila Šimčíková

Ročník: M2

Školitel: Ing. Nikola Vrzáčková, Ph.D.

Nikotinamidfosforibosyltransferasa (Nampt) je klíčový enzym záchranné dráhy biosyntézy nikotinamidadenindinukleotidu. Distribuce Nampt v buňce se dynamicky mění, přičemž pozorován byl zejména její přesun mezi cytosolem a jádrem. Mechanismy transportu však nejsou plně objasněny a patrně závisí na dosud nezmapovaných protein-protein interakcích. Cílem práce je zavést metody pro izolaci Nampt a identifikovat její interakční partnery.

Pro izolaci proteinových komplexů byla využita linie myších preadipocytů 3T3-L1. Byly zavedeny dvě imunoprecipitační metody: GFP-Trap pro záchyt Nampt ve fúzi se zeleným fluorescenčním proteinem (GFP) a protein A/G kuličky pro izolaci endogenní Nampt. Úspěšnost záchytu Nampt byla ověřena metodou Western blot s následnou imunochemickou detekcí. Analýza eluátů z GFP-Trap pomocí hmotnostní spektrometrie a statistického hodnocení založeného na robustním Z-skóre odhalila v buňkách 62 kandidátních proteinů asociovaných s Nampt, což potvrzuje zapojení enzymu do širší proteinové interakční sítě. Jednalo se o proteiny související například s intracelulárním transportem či proteostasou.

Spectral Characterization and Maturation Kinetics of Fluorescent Protein Timers in Nicotiana benthamiana

Jméno: Nela Šindelářová

Ročník: B3

Školitel: Ing. Roman Pleskot, Ph.D.

Fluorescent protein timers (FTs) allow quantitative spatiotemporal tracking of protein age, turnover, and distribution *in vivo* via time-dependent emission spectrum shifts. While well-characterized in mammalian systems, FT maturation in plants may differ due to distinct organellar pH, redox state, and tissue autofluorescence.

In this study, we characterize four monomeric FTs (mRubyFT, SlowFT, MediumFT, FastFT), one tetrameric FT (DsRedFT), and two static controls (TagBFP, mCherry Cyt) transiently expressed in *Nicotiana benthamiana* via agroinfiltration. Emission spectra are systematically recorded at 2, 4, and 6 days post-infiltration using microplate reader spectroscopy.

To separate timer maturation from ongoing protein synthesis, leaf discs on 0.5% agar in black microplates are treated with cycloheximide (CHX) or water control. Continuous kinetic fluorometry over 24–48 hours reveals distinct maturation kinetics, establishing a baseline platform for monitoring plant protein dynamics *in vivo*.

Dvoukrokové fluorescenční značení proteinů s využitím enzymu sortasa a „click“ reakce

Jméno: Bc. Barbora Šmídková

Ročník: M2

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Cílem práce je zavést metodu dvoukrokového fluorescenčního značení proteinů pomocí enzymu sortasa a následné „click“ reakce. Sortasa A je transpeptidasa pocházející z bakterie *Staphylococcus aureus*, která ji využívá při stavbě buněčné stěny. Rozpoznává motiv LPXTG na C-konci substrátu, který štěpí za threoninem. Následně zprostředkuje ligaci s molekulou s oligoglycinovým motivem na N-konci. Námi vybraný modelový substrát je nestrukturní protein nsp 14 viru SARS-CoV-2 s aminokyselinovými motivy pro N-, nebo C-koncové značení. Druhým substrátem je příslušný peptid s navázaným dibenzocyklooktynem, DBCO, na který je následně „click“ reakcí připojen fluorofor. „Click“ chemie využívá vysoké reaktivity stericky napjaté trojné vazby s molekulou azidu za vzniku heterocyklu.

V rámci práce byl v bakteriálním expresním systému produkován a následně izolován enzym sortasa. Mutagenezí plasmidu, který kóduje nsp14, byly připraveny konstrukty kódující proteiny GGG-nsp14 a nsp14-LPETG. Nsp14-LPETG byl následně produkován v bakteriálním expresním sytému a izolován. Pro ověření aktivity sortasy byla provedena *in vitro* reakce, jejíž produkty byly analyzovány metodou SDS-PAGE a poté přeneseny na membránu metodou Western Blot. Na membráně byla provedena „click“ reakce s FAM-azidem.

Klinická biochemie

MÍSTO:

prostory ústavu 320

KOMISE:

doc. Ing. Vojtěch Škop, Ph.D.

doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.
Ing. Tereza Šmrhová
Ing. Simona Peroutková, Ph.D.

STUDENTI:

BC. DENISA BACIGALOVÁ (M2, *doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.*)
Biologické hodnotenie nových rádiosenzitizérov na báze molybdénových klastrov

BC. JANA HÁNGOCOVÁ (M2, *Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.*)
Protinádorový účinek kombinací kolchicinu s inhibitory P-glykoproteinu v buněčné linii plicního adenokarcinomu

BC. JULIE HMURČÍK-SOLÁROVÁ (M2, *Ing. Vladimíra Svobodová Pavlíčková, Ph.D. Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.*)
Studium vzniku rezistence nádorových buněk k paklitaxelu: Příprava buněčných modelů a molekulární analýza

BC. MARKÉTA KLEČKOVÁ (M2, *Ing. Eva Jablonská, Ph.D.*)
Sledování genoprotektivity frakcí silymarinu *in vitro*

BC. KATEŘINA KUBÁLKOVÁ (M2, *RNDr. Aleš Dvořák, Ph.D.*)
Úloha trijódthyroninu v aktivaci biosyntézy žlučových kyselin

BC. EVA NASSOVÁ (M2, *prof. Dr. Ing. Radovan Hynek*)
Proteomická charakterizace odoperovaných tkání vestibulárních schwannomů s využitím TIMS-TOF

BC. KATEŘINA SEDLÁČKOVÁ (M2, *Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.*)
Indukce cytotoxické autofagie jako možná cesta k překonání chemorezistence prsních nádorových buněk ke kolchicinu

BC. KRISTÝNA SCHNEIDEROVÁ (M2, *doc. Ing. Martina Krausová, Ph.D*.)
Kvantifikace neuroplastických faktorů při alternativní léčbě deprese

Biologické hodnotenie nových rádiosenzitizérov na báze molybdénových klastrov

Jméno: Bc. Denisa Bacigalová

Ročník: M2

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

Účinnosť rádioterapie môže limitovať rezistencia buniek spojená s hypoxiou nádorov a poškodenie okolitých tkanív. Fotodynamickú terapiu zase obmedzuje nedostatočný prienik svetla do tkanív, čo limituje liečbu hlbšie uložených nádorov. Riešením je rádiodynamická terapia, ktorá kombinuje ionizujúce žiarenie a rádiosenzitizér s cieľom zvýšiť účinnosť ožiarenia. Táto práca sa zameriava na štúdium molybdénových nanoklastrov a overenie ich potenciálu vo fotodynamickej a rádiodynamickej terapii na modeli nádorovej bunkovej línie HeLa. Prietoková cytometria a konfokálna fluorescenčná mikroskopia preukázali časovú závislosť internalizácie klastrov do buniek s lokalizáciou v lyzozómoch, s maximálnym príjmom po 24 hodinách inkubácie. Testovanie metabolickej aktivity buniek potvrdilo fotodynamickú účinnosť po ožiarení svetlom s vlnovou dĺžkou 450 nm, pričom u najperspektívnejšieho z klastrov bola hodnota IC_{50} 0,9 nmol l^{-1}. Materiály zároveň preukázali aj rádiosenzitizačný efekt. Výsledky potvrdzujú, že molybdénové klastre predstavujú perspektívny nástroj pre fotodynamickú a rádiodynamickú nádorovú liečbu.

Protinádorový účinek kombinací kolchicinu s inhibitory P-glykoproteinu v buněčné linii plicního adenokarcinomu

Jméno: Bc. Jana Hángocová

Ročník: M2

Školitel: Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

Kolchicin je zkoumán pro své cytostatické účinky a možné využití v léčbě nádorových onemocnění. Jako mitotický jed inhibuje polymeraci mikrotubulů, čímž zastavuje buněčný cyklus ve fázi G2/M a indukuje apoptózu. Limitací jeho využití v chemoterapii je vznik lékové rezistence, která může být způsobena zvýšenou expresí P-glykoproteinu (P-gp), který způsobuje eflux kolchicinu z buněk, čímž snižuje jeho účinnost.

Zaměřili jsme se proto na zvýšení citlivosti nádorových buněk ke kolchicinu jeho kombinací s inhibitory P-gp, kanabidiolem (CBD) a tarikvidarem (TRQ), v buněčné linii adenokarcinomu plic (A549) a její variantě rezistentní ke kolchicinu (A549R). Nejprve byla v obou liniích stanovena cytotoxicita jednotlivých látek pro výběr netoxických koncentrací. Kombinace kolchicinu s CBD i TRQ vykazovaly synergické cytotoxické účinky v obou liniích, přičemž vyšší míra synergie byla pozorována v případě rezistentní linie. V navazujících experimentech se zaměříme na mechanismus účinku kombinací látek, zejména na změny v buněčném cyklu, morfologii mikrotubulů a účinky na nenádorové buňky. Dosavadní výsledky naznačují potenciál CBD i TRQ ve zvýšení citlivosti buněk plicního adenokarcinomu ke kolchicinu, což by mohlo přispět k vývoji nových strategií pro překonání lékové rezistence.

Studium vzniku rezistence nádorových buněk k paklitaxelu: Příprava buněčných modelů a molekulární analýza

Jméno: Bc. Julie Hmurčík-Solárová

Ročník: M2

Školitel: Ing. Vladimíra Svobodová Pavlíčková, Ph.D.
Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

Paklitaxel je cytostatikum ze skupiny taxanů, jehož mechanismus účinku spočívá ve vazbě na mikrotubuly a jejich stabilizaci, čímž dochází k narušení dynamiky a inhibici buněčného dělení. Přestože je široce využíván v protinádorové terapii, jeho účinnost bývá omezena rozvojem lékové rezistence, jejíž molekulární mechanismy nejsou dosud zcela objasněny.

Cílem této práce je proto studium vzniku rezistence vůči paklitaxelu v buňkách nádorových linií HeLa, UFH-001 a SKOV-3 a charakterizace změn spojených se sníženou citlivostí k tomuto léčivu. Rezistence byla indukována postupnou expozicí buněk zvyšujícím se koncentracím paklitaxelu, přičemž citlivost jednotlivých linií je hodnocena na základě stanovených hodnot IC_{50}. Pozornost byla dále věnována podrobnější charakterizaci buněčné linie HeLa, která zahrnovala studium změn jejich fenotypu pomocí fluorescenční mikroskopie a proteomickou analýzu zaměřenou na identifikaci změn v proteinovém profilu a buněčných procesech potenciálně souvisejících s rozvojem rezistence.

Dále je plánováno rozšíření fenotypových a proteomických analýz na zbývající buněčné linie a doplnění o transkriptomiku a metabolomiku. Propojení těchto přístupů může přispět ke komplexnějšímu pochopení molekulárních mechanismů získané rezistence vůči paklitaxelu.

Sledování genoprotektivity frakcí silymarinu in vitro

Jméno: Bc. Markéta Klečková

Ročník: M2

Školitel: Ing. Eva Jablonská, Ph.D.

Silymarin je směs látek obsažených v doplňcích stravy na podporu funkce jater. Získává se ze Silybum marianum, ale část jeho složení ještě není zcela známa. Cílem práce je objasnit povahu této části z hlediska působení na DNA. Toto je zkoumáno na buňkách Caco-2 (buňky lidského kolorektálního adenokarcinomu). Buňky střevního epitelu jsou v přímém kontaktu s těmito látkami, proto byly Caco-2 zvoleny jako modelové buňky. Námi pozorovaná část silymarinu byla testovaná na cytotoxicitu pomocí resazurinového testu a na genotoxicitu. Genetické změny jsou následně vyhodnoceny pomocí fluorescenční mikroskopie, pomocí které jsou vizualizována jádra buněk (v kanálu DAPI) a DNA zlomy (v kanálu Cy3). Genetické změny jsou vizualizovány pomocí protilátek vázaných na γH2AX histony, tyto histony jsou markery DNA zlomů. Genotoxicita (případně genoprotektivita) je vyhodnocena podle množství DNA zlomů v jádrech buněk. Jako genotoxická kontrola byl použit doxorubicin, který způsobuje jednořetězcové a dvouřetězcové zlomy DNA. Byly použity různé koncentrace doxorubicinu a frakce a jejich kombinace. Zjistili jsme, že tato frakce nemá negativní ani pozitivní účinek na DNA zlomy.

Úloha trijódthyroninu v aktivaci biosyntézy žlučových kyselin

Jméno: Bc. Kateřina Kubálková

Ročník: M2

Školitel: RNDr. Aleš Dvořák, Ph.D.

Konzultantka: Ing. Kateřina Žížalová, Ph.D.

Hormon trijódthyronin (T_3) je klíčový spínač buněčné diferenciace a regulátor jaterního metabolismu, který přes receptor THRβ indukuje transkripci genu pro protein *CYP7A1*. Jedná se o limitující enzym přeměny cholesterolu na žlučové kyseliny (ŽK). Bylo zároveň popsáno, že aktivaci biosyntézy ŽK v buněčných modelech by měl spouštět právě T_3. Vzhledem k tomu, že při chronických jaterních onemocněních dochází ke změnám v biosyntéze ŽK, nabízí se otázka, jak se na těchto změnách podílí signalizace hormonů štítné žlázy. Výzkum biosyntézy ŽK limituje absence vhodného *in vitro* modelu, neboť buněčné linie za standardních podmínek ŽK neprodukují a primární kultury nelze použít ke studiu chronických onemocnění. Cílem práce je nalézt podmínky aktivace syntézy ŽK pomocí T_3 u linie HepaRG a následně i jaterních organoidů. Linie HepaRG byla inkubována s T_3 (10-200 nM; 2 a 24 h) a pomocí qPCR byla stanovena transkripce genu *THRB* a genů klasické (*CYP7A1)* i alternativní (*CYP27A1*, *CYP7B1*) dráhy. Výsledky potvrdily stimulaci obou drah s výrazným nárůstem transkripce THRβ i *CYP7A1*. U genů alternativní dráhy došlo k maximální indukci již při 20 nM po 2 h. Nyní probíhá ověření tvorby samotných ŽK pomocí LC-MS na linii HepaRG. Následovat bude zavedení produkce ŽK v modelu jaterních organoidů.

Proteomická charakterizace odoperovaných tkání vestibulárních schwannomů s využitím TIMS-TOF

Jméno: Bc. Eva Nassová

Ročník: M2

Školitel: prof. Dr. Ing. Radovan Hynek

Vestibulární schwannom je nejčastějším benigním nádorem mostomozečkového koutu vycházejícím ze Schwannových buněk vestibulárního nervu. Přestože se jedná o nádor nezhoubný, může pacienta vážně ohrožovat na životě progresivním růstem a utlačováním mozkového kmene. Znalost molekulárního profilu tumoru za účelem predikce dalšího vývoje onemocnění je tedy zásadní. Cílem této práce je charakterizace těchto tkání na proteomické úrovni pomocí hmotnostní spektrometrie TIMS-TOF.

Z odoperovaných nádorů byly získány tři skupiny vzorků: matrice, zvukovod, kapsule. Kontrolní tkáň představoval *nervus auricularis magnus* (velký ušní nerv). Vzorky byly štěpeny trypsinem a následně analyzovány pomocí přístroje TIMS-TOF, což umožnilo velmi citlivou proteomickou analýzu. Získaná data byla bioinformaticky zpracována pro identifikaci proteinů, jejich kvantifikaci a srovnání výskytu v jednotlivých typech tkání.

Výsledky poukazují na signifikantní proteomické odlišnosti mezi sledovanými typy patologických tkání i ve srovnání s kontrolou. Identifikované rozdíly v expresních hladinách proteinů odrážejí molekulární změny provázející růst nádoru a poskytují podklad pro hlubší pochopení tohoto typu tumoru.

Podpořeno MZd ČR a AZV ČR (projekt č. NW26-04-00362).

Indukce cytotoxické autofagie jako možná cesta k překonání chemorezistence prsních nádorových buněk ke kolchicinu

Jméno: Bc. Kateřina Sedláčková

Ročník: M2

Školitel: Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

Rakovina prsu je celosvětově nejčastěji diagnostikovaným nádorovým onemocněním u žen. Trojitě negativní karcinom prsu se vyznačuje vysokou mírou recidivy a nepříznivou prognózou, v důsledku omezených terapeutických možností, závažných nežádoucích účinků a rychlého rozvoje lékové rezistence. Alternativou by mohla být kombinační léčba založená na indukci cytotoxické autofagie v nádorových buňkách. Cílem práce bylo proto identifikovat synergické cytotoxické kombinace kolchicinu s vybranými induktory autofagie, derivátem mevastatinu a acridinu, v buněčné linii trojitě negativní rakoviny prsu (UFH-001) a její variantě rezistentní ke kolchicinu (UFH-001 R). V případě obou testovaných látek byly identifikovány kombinace s kolchicinem, které v těchto buňkách vykazovaly synergický cytotoxický účinek v obou těchto liniích. Vzhledem k antimitotickému účinku kolchicinu byla dále fluorescenční mikroskopií zkoumána modulace morfologie mikrotubulů v buňkách ošetřených vybranými kombinacemi kolchicinu s induktory autofagie. Získané výsledky by mohly přispět k lepšímu pochopení role cytoprotektivní autofagie v trojitě negativním karcinomu prsu s rezistencí vůči kolchicinu a mohly by představovat základ pro další výzkum potenciálních kombinačních terapeutických přístupů.

Kvantifikace neuroplastických faktorů při alternativní léčbě deprese

Jméno: Bc. Kristýna Schneiderová

Ročník: M2

Školitel: doc. Ing. Martina Krausová, Ph.D.

Deprese je závažné psychiatrické onemocnění představující heterogenní syndrom, který se vyznačuje značnou variabilitou klinických projevů, průběhu onemocnění i odpovědí na léčbu. Je spojována mimo jiné s narušenou neuroplasticitou, jejíž obnova může přispívat k antidepresivním účinkům léčby. Přibližně 30 % pacientů vykazuje rezistenci vůči standardní antidepresivní léčbě, což podněcuje výzkum alternativních přístupů, které mohou neuroplastické procesy ovlivňovat. Tato práce vzniká ve spolupráci s Národním ústavem duševního zdraví v rámci klinické studie zaměřené na léčbu rezistentní deprese psilocybinem a ketaminem. Cílem je stanovit koncentrace potenciálních biomarkerů, konkrétně mozkového neurotrofického faktoru (BDNF) a oxytocinu v krevním séru pacientů a sledovat jejich změny v souvislosti s podanou léčbou. Vzorky byly odebírány pacientům při vstupním vyšetření, bezprostředně před podáním léčiva a v několika časových bodech, až do dvou týdnů po podání. BDNF je stanovován sendvičovou ELISA metodou a oxytocin kompetitivní ELISA metodou. Dosud byly kompletně analyzovány vzorky od 20 pacientů. Další fáze zahrnuje dokončení laboratorních analýz a vyhodnocení vztahu mezi koncentracemi stanovovaných látek, klinickými charakteristikami pacientů a terapeutickou odpovědí.

Mikrobiologie

MÍSTO:

prostory ústavu 320

KOMISE:

doc. Ing. Hana Stiborová, Ph.D.

doc. Ing. Igor Hochel
Ing. Michal Dvořák
Ing. Bára Křížkovská, Ph.D.

STUDENTI:

BC. NIKOLA BARTOŇOVÁ (M2, *doc. Ing. Petra Lovecká, Ph.D.*)
Degradace alkylbenzensulfonátů

ALŽBĚTA HONSŮ (M2, *doc. Ing. Jan Lipov, Ph.D.*)
Příprava kmenů *Escherichia coli* s geny *cat* pro chloramfenikolacetyltransferasu klinicky významných bakterií a hledání jejích potenciálních inhibitorů

BC. KRISTÝNA HOSTKOVÁ (M1, *Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.*)
Charakterizace mikrobiálního konsorcia utilizujícího kyselinu *p*-kumarovou

BC. BARBORA HOUDOVÁ (M2, *Ing. Hana Sýkorová, Ph.D.*)
Potenciál bakterií z povrchu hlíz pro biologickou ochranu brambor

BC. MICHAELA HUMENÍKOVÁ (M1, *Ing. Jáchym Šuman, Ph.D., Dott. Mag. Stephanie Campeggi*)
Charakterizácia novej enzymatickej dráhy degradácie fenylpropanoidov v pôdnej baktérii *Pseudomonas rhizophila* ASC12

BC. KLÁRA CHROBOKOVÁ (M2, *doc. Jitka Viktorová, Ph.D.*)
Stanovení účinků složek silymarinu

Bc. Marie Kličková (M2, *Ing. Michal Strejček, Ph.D*.)
Taxonomická analýza bakteriální sbírky rodu *Brucella*

Bc. Tomáš Ledinský (M2, *Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D*.)
Potrápit, ale nezabít: Netermální plazma jako selekční tlak na *Staphylococcus aureus*

Bc. Matyáš Olšák (M2, *Ing. Simona Peroutková Ph. D*.)
Vývoj metodiky pro identifikaci kožních komenzálů produkujících antimikrobiální látky

Degradace alkylbenzensulfonátů

Jméno: Bc. Nikola Bartoňová

Ročník: M2

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

Recyklace plastového odpadu představuje jednu z environmentálních výzev. Jedním ze způsobů recyklace plastů je pyrolýza. Touto cestou vzniká pyrolýzní olej, ze kterého lze připravit lineární alkylbenzensulfonáty (LAS). Tyto látky mají široké uplatnění v průmyslu i v běžné domácnosti. Před uvedením na trh je potřeba objasnit jejich dopad na životní prostředí a biologickou odbouratelnost. Cílem práce je posoudit mikrobiální degradaci LAS a jejich ekotoxicitu. V první fázi výzkumu byly využity komerčně dostupné LAS. Z kontaminované půdy byly selekčně izolovány mikroorganismy, které byly identifikovány metodou MALDI-TOF MS. Dále byla sledována schopnost růstu izolátů v médiích obsahujících komerční LAS bez/s přídavkem glukosy. Současně byla hodnocena ekotoxicita komerčního LAS na prokaryotních (půdní konsorcium, *Aliivibrio fischeri*) a eukaryotních (*Lactuca sativa* L.) modelech. V dalších krocích se práce zaměří na degradační pokusy, při nichž bude analyzován stupeň degradace substrátu pomocí HPLC-UV a na porovnání vlastností komerčního LAS a LAS připraveného z plastových odpadů z hlediska ekotoxicity a biologické odbouratelnosti.

Příprava kmenů Escherichia coli s geny cat pro chloramfenikolacetyltransferasu klinicky významných bakterií a hledání jejích potenciálních inhibitorů

Jméno: Alžběta Honsů

Ročník: M2

Školitel: doc. Ing. Jan Lipov, Ph.D.

Antibiotická rezistence je považována za jeden z nejzávažnějších problémů současného zdravotnictví. Chloramfenikolacetyltransferasy jsou hlavním mechanismem rezistence k chloramfenikolu. Dělí se do dvou hlavních tříd s několika podtřídami. Platforma ARP (Antibiotic Resistance Platform) obsahující tři kmeny *Escherichia coli* DH5α s různými geny *cat* pro chloramfenikolacetyltransferasu byla rozšířena o dva geny *cat* ze *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérovar Typhi, které byly vybrány na základě klinické relevance. Rezistence připravených kmenů byla ověřena stanovením minimální inhibiční koncentrace chloramfenikolu. Všech pět kmenů bylo využito pro testování 52 derivátů chloramfenikolu. Byla testována jak jejich antimikrobiální aktivita, tak jejich využitelnost jako adjuvans léčby chloramfenikolem. Jako slibné se zdají čtyři deriváty. Dva deriváty mají vyšší antimikrobiální aktivitu než chloramfenikol a dva se jeví jako potenciální adjuvans. Dále byly připraveny kmeny *E. coli* BL21 (DE3) pro produkci a izolaci těchto enzymů. Enzymy byly úspěšně produkovány. Izolace proběhla zatím pouze u jednoho, ostatní budou následovat. U takto připravených enzymů bude změřena aktivita a dále budou využity k testování derivátů chloramfenikolu.

Charakterizace mikrobiálního konsorcia utilizujícího kyselinu p-kumarovou

Jméno: Bc. Kristýna Hostková

Ročník: M1

Školitel: Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.

Lignin je významnou složkou rostlinné biomasy a představuje potenciální obnovitelný zdroj aromatických sloučenin. Jeho biologická depolymerizace je však spojena s uvolňováním aromatických meziproduktů. Jedním z nich je kyselina *p*-kumarová, kterou jsou některá mikrobiální společenstva schopna utilizovat. Studium těchto společenstev může přispět k lepšímu pochopení mikrobiální degradace aromatických látek a jejich přeměn v životním prostředí. Cílem této práce je z bakteriálního konsorcia získaného nabohacovací kultivací na kyselině *p*-kumarové izolovat a identifikovat jeho bakteriální zástupce a ověřit jejich schopnost degradovat kyselinu *p*-kumarovou. K identifikaci bakteriálních kmenů byly využity metody MALDI-TOF MS a sekvenace genu pro 16S rRNA, jejich degradační schopnost byla stanovena pomocí HPLC. Z půdního konsorcia bylo izolováno šest kmenů náležejících do rodů *Achromobacter*, *Cupriavidus*, *Paracoccus*, *Pseudomonas* a *Xenophilus*. Všech šest kmenů signifikantně transformovalo kyselinu *p*-kumarovou. Do budoucna bude výzkum rozšířen o studium degradačních schopností získaných izolátů vůči antropogenním polutantům (například chlorovaným fenolům, polycyklickým aromatickým uhlovodíkům či ftalátům), což by mohlo vést k jejich uplatnění v bioremediačních technologiích.

Potenciál bakterií z povrchu hlíz pro biologickou ochranu brambor

Jméno: Bc. Barbora Houdová

Ročník: M2

Školitel: Ing. Hana Sýkorová, Ph.D.

Tato práce se zabývá izolací a charakterizací biologického agens proti původcům měkké hniloby brambor. Pozornost byla věnována mikroorganismům přirozeně osídlujícím povrch bramborových hlíz a jejich okolí. Z pěti vzorků neočištěných hlíz pocházejících z různých lokalit bylo získáno 160 bakteriálních izolátů. Ty byly podrobeny screeningu antimikrobiální aktivity proti třem typovým pektinolytickým bakteriím (*Pectobacterium atrosepticum*, *Pectobacterium carotovorum* a *Dickeya solani*). Šest izolátů vykazujících aktivitu proti všem patogenům postoupilo do další fáze testování a bylo doplněno o čtrnáct dalších poskytnutých kolektivem laboratoře. U všech byla ověřena čistota kultur a v případě potřeby bylo provedeno přečištění. Následně byla znovu potvrzena antimikrobiální aktivita přečištěných izolátů. Kmeny byly mikroskopovány, identifikovány pomocí MALDI-TOF MS a charakterizovány pomocí testů zaměřených na rozklad škrobu a pektinu, produkci sideroforů, motilitu, citlivost vůči antibiotikům a povahu antimikrobiálního účinku. Použitou metodikou byly získány především bakterie rodu *Serratia*, které představují perspektivní kandidáty pro biologickou ochranu proti měkké hnilobě brambor a budou dále testovány v experimentech na hlízách a z hlediska životaschopnosti při různých teplotách.

Charakterizácia novej enzymatickej dráhy degradácie fenylpropanoidov v pôdnej baktérii Pseudomonas rhizophila ASC12

Jméno: Bc. Michaela Humeníková

Ročník: M1

Školitel: Ing. Jáchym Šuman, Ph.D., Dott. Mag. Stephanie Campeggi

Lignín je druhým najrozšírenejším biopolymérom na Zemi a zároveň odpadným vedľajším produktom obzvlášť papierenského priemyslu. Jeho efektívne zhodnotenie vyžaduje poznanie mikrobiálnych dráh degradácie aromatických monomérov vznikajúcich pri jeho rozklade, najmä fenylpropanoidov a príbuzných fenolických zlúčenín.

Kmeň *Pseudomonas rhizophila* ASC12 bol izolovaný na základe schopnosti degradovať acetosyringón a na svojom chromozóme nesie génový klaster *asdRFG*. V tejto práci sme sa zamerali na charakterizáciu tohto klastra, kódujúceho transkripčný regulátor z rodiny AraC (gén *asdR*), dioxygenázu (*asdF*) a proteín neznámej funkcie (*asdG*). Kombinácia génov *asdFG* bola vnesená do expresného vektora pET-19b a heterológne exprimovaná v *Escherichia coli*, následne bola testovaná enzymatická aktivita na ôsmich modelových fenolických monoméroch lignínu. Ďalej bola skúmaná indukcia génov *asd* klastra pomocou biosenzorových kmeňov nesúcich predpokladanú regulačnú sekvenciu predchádzajúcu génu *asdF*, fúzovanú s reportérovým génom *egfp*.

Testy enzymatickej aktivity ukázali, že bunky *E. coli* nesúce gény *asdFG* degradovali kyselinu sinapovú, ferulovú a škoricovú. Prítomnosť predpokladaného proteínu AsdF v bunkách bola takisto overená pomocou elektroforézy. Z látok testovaných na indukciu génov spúšťal expresiu reportéra orcinol. Výsledky tvoria základ pre ďalšie štúdium dráhy degradácie modelových fenylpropanoidných monomérov lignínu, najmä funkcie predpokladanej dioxygenázy AsdF.

Stanovení účinků složek silymarinu

Jméno: Bc. Klára Chroboková

Ročník: M2

Školitel: doc. Jitka Viktorová, Ph.D.

Konzultanti: Ing. Anna Fiedler, Ing. Petra Třešňáková

Silymarin, methanolový extrakt z ostropestřce mariánského, je široce užívané hepatoprotektivum. Přibližně polovinu jeho složení tvoří dobře prozkoumané flavonolignany a druhou polovinu tvoří necharakterizovaná „polymerní frakce“. Vzhledem k rozšíření silymarinu ve farmacii, doplňcích stravy a absenci znalostí o této nedefinované složce je zásadní posoudit její bezpečnost a biologický potenciál. Cílem práce bylo zhodnotit antimikrobiální, cytotoxické a antioxidační účinky polymerní frakce a čistých složek silymarinu (silybinu AB a 2,3-dehydrosilybinu). Antimikrobiální testování neprokázalo významný přímý účinek. Dále byla stanovena cytotoxicita na buněčné linii Caco-2, odvozené od adenokarcinomu tlustého střeva. Netoxické koncentrace posloužily k testování antioxidačních vlastností. Metoda CAA (z angl. Cellular Antioxidant Activity) potvrdila výrazný antioxidační účinek silybinu AB oproti polymerní frakci. Výsledky naznačují, že potenciál silymarinu spočívá v antioxidačním působení flavonolignanů. Pro hlubší pochopení mechanismu bude měření doplněno o stanovení metodou ORAC (z angl. Oxygen Radical Absorbance Capacity). V budoucnu bude prověřena protizánětlivá aktivita (ELISA: vliv na IL-1β, IL-6 a TNFα) a případný vliv na signální dráhy NFκB a NRF-2 pomocí reportérových testů.

Taxonomická analýza bakteriální sbírky rodu Brucella

Jméno: Bc. Marie Kličková

Ročník: M2

Školitel: Ing. Michal Strejček, Ph.D.

Brucella je rod gramnegativních intracelulárně patogenních bakterií způsobujících brucelózu, zoonózu, jejíž původci jsou zařazeni do skupiny BSL 3 a mezi Vysoce rizikové biologické agenty a toxiny. Určování druhové příslušnosti izolátů rodu *Brucella* je klíčové pro epidemiologický dohled, neboť se jednotlivé druhy liší spektrem hostitelů a mírou nebezpečnosti pro člověka. Standardně se k jejich klasifikaci využívají přístupy založené na analýze fenotypu (biochemické metody, hmotnostní spektrometrie) a genotypové metody založené na PCR. Ve spolupráci s Vojenským zdravotním ústavem a SÚJCHBO byla analyzována data z celogenomového sekvenování 47 izolátů. Cílem práce bylo ověřit potenciál klasifikace brucel na základě celého genomu. Po kontrole kvality surových dat a sestavení genomů byl pro taxonomickou klasifikaci vzorků využit standardní nástroj GTDB-Tk. Vzhledem k vysoké genomové podobnosti klinicky a hospodářsky významných brucel bylo výsledkem zařazení všech vzorků do jediného druhu *B. melitensis*, ačkoli sbírka uváděla osm různých druhů. Tato práce představuje výsledky několika alternativních přístupů klasifikace brucel.

Potrápit, ale nezabít: Netermální plazma jako selekční tlak na Staphylococcus aureus

Jméno: Bc. Tomáš Ledinský

Ročník: M2

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Netermální plazma (NTP) inaktivuje *Staphylococcus aureus*, původce infekcí ran. Počet kultivovatelných buněk klesá i po ukončení výboje, zřejmě vlivem přetrvávajících reaktivních forem kyslíku a dusíku (RONS) a změn pH. Protože NTP zasahuje mnoho buněčných cílů najednou, je vznik rezistence považován za méně pravděpodobný. Adaptace na opakovanou subletální expozici však zůstává málo prozkoumaná.

Její studium vyžaduje dávku, která bakterie poškodí, ale nezabije. Při počáteční koncentraci $3 \cdot 10^5$ KTJ/ml poklesl počet *S. aureus* v pufru pod mez detekce až po 17–20 min výboje. Srovnatelný pokles vyvolaly i 2 min ošetření a 24 h stání vzorku. Výsledky ukazují výrazný účinek NTP přetrvávající v kapalině, dále studovaný v plazmatem aktivovaných roztocích. Jejich účinnost závisela na složení prostředí, v bohatém médiu byla nižší, pravděpodobně kvůli reakcím RONS s médiem.

Cílem práce je navrhnout podmínky opakované subletální expozice NTP u *S. aureus*. U získaných linií bude hodnocena citlivost k plazmatu i antibiotikům a analyzována transkripce genů antioxidační obrany. Výsledky umožní posoudit adaptaci *S. aureus*.

Vývoj metodiky pro identifikaci kožních komenzálů produkujících antimikrobiální látky

Jméno: Bc. Matyáš Olšák

Ročník: M2

Školitel: Ing. Simona Peroutková Ph. D.

S rostoucí četností antibiotické rezistence u bakterií je žádoucí zkoumat alternativní možnosti léčby a prevence méně závažných chorob. Mezi ně patří i kožní onemocnění způsobená bakterií *Staphylococcus aureus*. Tento mikroorganismus je běžnou součástí přirozené mikrobioty mnoha jedinců, avšak při oslabení imunity nebo poškození kůže může vyvolat infekce, jako je například impetigo, či zhoršit průběh atopického ekzému.

Složení kožní mikrobioty je značně rozmanité a mezi jednotlivci se liší. U některých osob se dokonce vyskytují bakteriální kmeny, které růst *Staphylococcus aureus* aktivně potlačují. Cílem tohoto projektu je tyto kmeny úspěšně identifikovat a posoudit jejich antimikrobiální potenciál a možné využití v kosmetickém průmyslu. Nedílnou součástí práce je také hledání vhodné metodiky pro izolaci a identifikaci těchto mikroorganismů, přičemž jako nejvhodnější se jeví kombinace konvenčních kultivačních metod a identifikace získaných izolátů pomocí MALDI-TOF MS**.**

Molekulární biologie

MÍSTO:

prostory ústavu 320

KOMISE:

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

Ing. Eva Jablonská, Ph.D.
Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.
Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

STUDENTI:

BC. ANNA BUKOVÁ (M2, *Ing. Tereza Leonhardt Ph.D.*)
Biochemická validace vazebných míst transkripčního regulátoru psilocybinového genového klastru PsiR

BC. KRISTÝNA JELČOVÁ (M2, *Ing. Jan Sácký, Ph.D.*)
Vliv dusíkové katabolitové represe na hladinu psilocybinu

BC. FABIAN KOŇÁK (M2, *Ing. Tereza Leonhardt, Ph.D.*)
Konstrukce vektorů pro expresi fluorescenčních markerů v kvasince *Saccharomyces cerevisiae*

BC. ÉMILIE MUTOMBO (M2, *Ing. Petr Svoboda, Ph.D.*)
Příprava plazmidu pro studium metabolismu nikotinamidadenindinukleotidu

BC. ELIŠKA RODOVÁ (M2, *doc. Ing. Jitka Viktorová Ph.D.*)
Vývoj rezistence k adjuvantní terapii pomocí adaptivní laboratorní evoluce

BC. OLENA STRAKH (M2, *doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.*)
Production of H_2O_2 from molecular H_2 in aerobic organisms

BC. KAROLÍNA ŠUSTROVÁ (M2, *Ing. Michal Strejček, Ph.D.*)
Metagenomická analýza genetického potenciálu radiorezistence mikroorganismů jáchymovských radioaktivních pramenů

BC. KAROLÍNA TÁBOROVÁ (M2, *Ing. Eliška Čermáková, Ph.D.*)
Molekulárně-biologické stanovení DNA heřmánku pravého

Biochemická validace vazebných míst transkripčního regulátoru psilocybinového genového klastru PsiR

Jméno: Bc. Anna Buková

Ročník: M2

Školitel: Ing. Tereza Leonhardt Ph.D.

Produkce psilocybinu u hub rodu *Psilocybe* je dlouhodobě předmětem výzkumu kvůli potenciálu psychedelik v léčbě neurologických a psychologických onemocnění. Zatímco jednotlivé enzymy biosyntetické dráhy a jejich funkce jsou již známé, regulace biosyntézy zůstává neobjasněná. Z výzkumu víme, že vegetativní mycelium obsahuje oproti plodnici zanedbatelné množství psilocybinu. Regulační mechanismy biosyntézy jsou tedy pravděpodobně úzce spjaty s konkrétním vývojovým stadiem houby. V biosyntetickém genovém klastru (*Psi* klastr) byl objeven gen pro potenciální transkripční regulátor PsiR, nicméně jeho role není dosud známá. Tato práce se zabývá experimentálním ověřením jeho schopnosti vazby na specifické regulační oblasti DNA *Psi* klastru. Klíčová je *in silico* analýza sekvence *Psi* klastru a identifikace potenciálních vazebných míst pro protein PsiR. Možné vazebné oblasti DNA budou amplifikovány pomocí PCR. Protein PsiR byl exprimován pomocí fúzního systému His-SUMO-pET v *E. coli* a bude purifikován pomocí Ni-NTA chromatografie a poté štěpen ULP proteasou. Interakce mezi proteinem PsiR a regulačními oblastmi DNA bude experimentálně ověřena pomocí metody EMSA za využití fluorescenčního barvení DNA a proteinů v gelu. Výsledky poskytnou základy poznání regulační sítě biosyntézy psilocybinu.

Vliv dusíkové katabolitové represe na hladinu psilocybinu

Jméno: Bc. Kristýna Jelčová

Ročník: M2

Školitel: Ing. Jan Sácký, Ph.D.

Dusík patří mezi základní biogenní prvky a je nezbytný pro fungování všech živých organismů. Kvůli důležitosti tohoto prvku si organismy vyvinuly různé regulační mechanismy, aby se dokázaly přizpůsobit změnám koncentrací a dostupnosti dusíku v prostředí. Jedním z buněčných mechanismů, který se podílí na regulaci metabolismu dusíku, je dusíková katabolitová represe. Jedná se o strategii, která je využívána různými organismy k adaptaci na změny prostředí a efektivnímu využití zdrojů živin. Tento mechanismus byl zkoumán u houby *Psilocybe cubensis* vzhledem k její schopnosti produkovat dusíkatou psychoaktivní látku psilocybin. Kultivace mycelií probíhala v minimálním médiu za přítomnosti různých koncentrací amonných nebo dusičnanových iontů, přičemž dusičnany, na rozdíl od amonných iontů, podporují sekundární metabolismus. Dusíková katabolitová represe byla u *P. cubensis* potvrzena hmotnostní analýzou a analýzou genové exprese *psi* genů zodpovědných za syntézu psilocybinu pomocí metody qPCR. Zatímco mycelia kultivovaná v přítomnosti amonných iontů dosahovala vyšších výtěžků biomasy, v přítomnosti dusičnanových iontů došlo ke zvýšení exprese *psi* genů. Dalším cílem je propojit data z genové exprese s výsledky ze stanovení hladiny psilocybinu pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie.

Konstrukce vektorů pro expresi fluorescenčních markerů v kvasince Saccharomyces cerevisiae

Jméno: Bc. Fabian Koňák

Ročník: M2

Školitel: Ing. Tereza Leonhardt, Ph.D.

Kvasinka *Saccharomyces cerevisiae* slouží jako modelový organismus pro studium mikrobiálních interakcí a testování metabolického cross-feedingu za účelem optimalizace biotechnologických procesů. Klíčem je příprava stabilních reportérových kmenů, kde však běžné *in vitro* klonovací metody při konstrukci komplexních vektorů selhávají.

Příprava větších vektorů (~5 kbp) pomocí Gibson assembly se ukázala jako limitovaná obtížnou PCR amplifikací a purifikací. Strategie proto byla převedena na využití endogenní homologní rekombinace (HEJ) přímo v *S. cerevisiae*. Aktuálně probíhá optimalizace této *in vivo* metody na vektoru p416GPD záměnou selekčního markeru URA za LEU.

Sestavení plazmidu bude ověřeno fluorescenční mikroskopií v kvasinkách, následně proběhne zpětná izolace do *Escherichia coli* a ověření celoplazmidovým sekvenováním. Výhledovým cílem práce je vyštěpení a stabilní integrace ověřených expresních kazet přímo do genomu *S. cerevisiae* pomocí HEJ. Takto připravené kmeny poslouží k sestavení syntetické kokultury pro testování cross-feedingu a budoucí koexpresi biotechnologicky relevantních genů.

Příprava plazmidu pro studium metabolismu nikotinamidadenindinukleotidu

Jméno: Bc. Émilie Mutombo

Ročník: M2

Školitel: Ing. Petr Svoboda, Ph.D.

Nikotinamidadenindinukleotid (NAD) a klíčový enzym jeho záchranné syntetické dráhy, nikotinamidfosforibosyltransferasa (NAMPT), zastávají zásadní úlohu v buněčném energetickém metabolismu a signalizaci. K výzkumu jejich intracelulární lokalizace a transportu je nezbytná příprava vhodných biomolekulárních nástrojů. Cílem práce bylo navrhnout a sestavit plazmidový konstrukt. Vektor pEGFP-C1_NAMPT_MT2A nese ve své struktuře gen pro NAMPT ve fúzi s metalothioneinovou značkou (MT2A), která po navázání těžkého kovu umožňuje přesnou lokalizaci fúzního proteinu elektronovou mikroskopií. Požadovaný inzert *MT2A* byl amplifikován pomocí polymerázové řetězové reakce. Do vektoru byl *MT2A* začleněn metodou NEBuilder. Následně proběhla transformace do buněk *Escherichia coli* kmenů DH5α. Úspěšnost ligace a správnost konstruktu byly ověřeny restrikční analýzou pomocí endonukleasy *SpeI* s detekcí agarosovou elektroforézou. Byl úspěšně sestaven plazmidový konstrukt, který bude využit ke studiu metabolismu NAD a k mapování subcelulární distribuce NAMPT.

Vývoj rezistence k adjuvantní terapii pomocí adaptivní laboratorní evoluce

Jméno: Bc. Eliška Rodová

Ročník: M2

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

Staphylococcus aureus je celosvětově jednou z hlavních příčin úmrtí v důsledku bakteriálních infekcí. Vzhledem k jeho velmi rychlé adaptaci na antibiotika je nezbytné hledat alternativní strategie léčby. Jednou z nich je adjuvantní terapie, která spočívá v kombinaci antibiotika s látkou inhibující mechanismy bakteriální rezistence. Během experimentu adaptivní laboratorní evoluce byl klinický kmen *S. aureus* vystaven kontinuálnímu selekčnímu tlaku ciprofloxacinu, steroidu UCT69 a jejich kombinaci. Tento experiment proběhl ve dvou uspořádáních. V prvním, zahrnujícím jednu biologickou repliku, se minimální inhibiční koncentrace (MIC) ciprofloxacinu zvýšila 156krát, zatímco v kombinaci s UCT69 pouze osmkrát. Ve druhém uspořádání, zahrnujícím deset paralelně měřených biologických replik, došlo po expozici samotnému ciprofloxacinu k průměrnému zvýšení MIC 42krát, zatímco v kombinaci s UCT69 pouze šestkrát. Celogenomové sekvenování adaptovaných kmenů pomocí technologie Oxford Nanopore odhalilo mutace v cílových genech zejména u populací vystavených samotnému ciprofloxacinu. Naproti tomu při expozici kombinaci ciprofloxacinu s UCT69 se mutace vyskytovaly převážně v genech spojených s buněčnou fyziologií. Tyto výsledky naznačují, že UCT69 potlačuje vývoj rezistence vůči ciprofloxacinu.

Production of H_2O_2 from molecular H_2 in aerobic organisms

Jméno: Bc. Olena Strakh

Ročník: M2

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

Molecular hydrogen (H_2) is a small gas molecule long considered biologically inert in mammalian organisms. Our laboratory demonstrated the exact opposite: mammalian enzymes can catalyze a production of H_2O_2 from H_2 and the generated H_2O_2 serves as a signaling molecule modulating redox signaling. The aim of this work is to investigate this phenomenon across various aerobic organisms, explore its intracellular localization, and uncover the responsible proteins. To evaluate the level of formed H_2O_2, the Amplex Red assay was employed. This method sensitively detects resorufin – the fluorescent product of H_2O_2 reacting with Amplex Red reagent, catalyzed by HRP. The effects of H_2 were studied in human MRC-5 cells, erythrocytes, and microorganisms (*Staphylococcus aureus*, *Saccharomyces cerevisiae)*. Additionally, specific cellular fractions were isolated to identify the source of H_2O_2 generation. The results revealed that the highest H_2-induced H_2O_2 production is localized within the microsomal fraction. Measurements under normoxic and hypoxic conditions confirmed that this process is dependent on O_2 availability. This research contributes to a deeper understanding of mechanisms behind H_2 redox signaling.

Metagenomická analýza genetického potenciálu radiorezistence mikroorganismů jáchymovských radioaktivních pramenů

Jméno: Bc. Karolína Šustrová

Ročník: M2

Školitel: Ing. Michal Strejček, Ph.D.

Cílem práce je popsat genetický potenciál radiorezistence mikroorganismů čtyř jáchymovských pramenů, které vyvěrají 500 m pod povrchem v dole Svornost a tvoří přirozeně radioaktivní prostředí s gradientem radonu (5-20 kBq/l). Na základě literární rešerše mechanismů radiorezistence byla sestavena referenční databáze 83 proteinových rodin markerů a pro deset z nich byly vytvořeny referenční fylogenetické stromy na panelu 149 genomů (GTDB). V proteomech metagenomů (853 000 genů) byly pomocí HMM profilů vyhledány homologní sekvence (1 650 linií) a umístěny na referenční stromy metodou fylogenetického umísťování (EPA-ng). Homology devíti z deseti sledovaných rodin byly detekovány ve všech čtyřech pramenech. Výjimkou byla rodina manganového transportéru MntH, jejíž homology nebyly detekovány v prameni Běhounek. Fylogenetická analýza dále odhalila výrazně divergentní homology, které mohou představovat dosud nepopsané evoluční varianty proteinů spojovaných s radiorezistencí. Dalšími kroky bude zpracování dalších vybraných rodin markerů a kvantifikace jejich relativního zastoupení.

Molekulárně-biologické stanovení DNA heřmánku pravého

Jméno: Bc. Karolína Táborová

Ročník: M2

Školitel: Ing. Eliška Čermáková, Ph.D.

Zpracovávání rostlinných produktů má dlouhou historii a široké využití od fytoterapie až po kosmetický průmysl. Vysoká poptávka a omezená dostupnost surovin však vytvářejí ekonomický tlak na výrobce, což může vést k falšování či substituci složek. Vzhledem k nárůstu odhalených podvodů na trhu v posledních 30 letech je nutné mít k dispozici spolehlivé detekční metody.

Má práce se zaměřuje na kvalitativní detekci heřmánku pravého (*Matricaria chamomilla*) pomocí metody qPCR. Jelikož primery nalezené v literatuře vykazovaly v *in silico* analýze komplementaritu i s fylogeneticky příbuznými druhy, byly manuálně navrženy tři nové sady splňující kritéria selektivity. Takto navržené primery byly nejdříve testovány vůči vybraným zástupcům *M. chamomilla* a následně byla nejvhodnější sada primerů validována proti taxonomicky příbuzným a morfologicky podobným druhům potenciálně využitelným k adulteraci. Výsledky qPCR a agarosové elektroforesy potvrdily amplifikaci DNA pouze u cíleného druhu. Vybrané amplikony byly sekvenovány a porovnány s databází NCBI GenBank, čímž se potvrdila amplifikace cílové oblasti a druhová příslušnost testovaného materiálu. Tento přístup poskytuje základ pro návrh specifických sond, které by v budoucnu umožnili multiplexní stanovení více druhů.

Odpověď biologických systémů na externí podněty

MÍSTO:

prostory ústavu 320

KOMISE:

doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.

Ing. Nikola Vrzáčková, Ph.D.
Ing. Petr Svoboda, Ph.D.
Ing. Eva Benešová, Ph.D.

STUDENTI:

BC. ANEŽKA CYRUSOVÁ (M2, *Ing. Petr Svoboda, Ph.D.*)
Vliv zvýšené produkce nikotinamidfosforibosyltransferasy na proteom adipocytů a jejich extracelulárních vezikul

BC. SIYEON ASHLEY JEONG (M2, *Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.*)
Cytotoxicity of colchicine in combination with a selected P-glycoprotein inhibitor in breast cancer cells

BC. VERONIKA KADLEČKOVÁ (M2, *Ing. Eva Jablonská, Ph.D.*)
Testování endokrinní disrupce derivátů steroidů *in vitro*

BC. VALERIIA KARPENKO (M2, *doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.*)
Vliv záporných vzdušných iontů na produkci cytokinů v savčích buňkách

BC. SIMONA PETŘÍKOVÁ (M2, *Prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.*)
Vliv amfetaminu na expresi c-Fos v oblastech mozkové kůry a striata

BC. MARTIN STANĚK (M2, *doc. Ing. Petra Lovecká, Ph.D.*)
Účinky syntetických derivátů kyseliny betulinové a ursolové na vybrané buněčné linie

BC. PETR VOŘÍŠEK (M2, *Ing. Tomáš Podzimek Ph.D., RNDr. Hana Hansíková CSc*.)
Dopad mírné hypoxie na mitochondriální metabolismus: pilotní studie

BC. KAROLÍNA WATZIKOVÁ (M2, *doc. Ing. Vojtěch Škop, Ph.D*.)
Vliv bilirubinu na molekulární mechanismy biologických hodin v buněčném modelu HepaRG

BC. JIŘÍ ZVONÍČEK (M2, *doc. Jaroslav Zelenka, Ph.D*.)
Studium kombinovaného účinku kyseliny palmitové a T-2 toxinu v *in vitro* modelu jaterní steatózy

Vliv zvýšené produkce nikotinamidfosforibosyltransferasy na proteom adipocytů a jejich extracelulárních vezikul

Jméno: Bc. Anežka Cyrusová

Ročník: M2

Školitel: Ing. Petr Svoboda, Ph.D.

Nikotinamidfosforibosyltransferasa (Nampt) představuje klíčový enzym záchranné dráhy biosyntézy NAD^+. Nampt byla rovněž detekována v extracelulárních vezikulách (EV) zprostředkujících mezibuněčnou komunikaci. Cílem bylo objasnit vliv zvýšené exprese *Nampt* na proteom adipocytů a jimi sekretovaných EV. Použity byly adipocyty 3T3-L1, kontrolní linie a linie se zvýšenou produkcí Nampt (Nampt-WT). EV byly z kultivačního média izolovány diferenciální ultracentrifugací. Proteiny buněčných lyzátů a EV byly analyzovány kapalinovou chromatografií s tandemovou hmotnostní spektrometrií. V adipocytech Nampt-WT bylo významně vyšší zastoupení enzymů mevalonátové dráhy a biosyntézy cholesterolu (HMG-CoA-syntasy, skvalensyntasy, skvalenmonooxygenasy). Nižší zastoupení vykazovaly proteiny extracelulární matrix a její remodelace, zejména kolageny, fibronektin a matrixové metaloproteinasy. V EV bylo zjištěno zvýšené zastoupení Nampt a změny v hladinách proteinů vezikulárního transportu: podjednotky adaptorového proteinového komplexu AP-1 byly přítomny ve vyšší míře, zatímco podjednotky komplexu TRAPP (z angl. *transport protein particle*) v nižší. Výsledky naznačují, že zvýšená produkce Nampt souvisí jak s metabolickými změnami v adipocytech, tak s odlišným proteinovým složením jimi sekretovaných EV.

Cytotoxicity of colchicine in combination with a selected P-glycoprotein inhibitor in breast cancer cells

Jméno: Bc. Siyeon Ashley Jeong

Ročník: M2

Školitel: Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

Cancer poses one of the leading causes of mortality worldwide, with triple-negative breast cancer (TNBC) imposing critical medicinal constraints due to the frequent occurrence of drug resistance. This research investigates whether the anticancer activity of colchicine, a potent antimitotic agent whose clinical efficacy is repressed by P-glycoprotein (P-gp)-mediated efflux, can be elevated by targeted P-gp inhibition. Combinations of colchicine and an anilinopyrimidine-derived P-gp inhibitor were evaluated in the TNBC cell line UFH-001 and its colchicine-resistant variant UFH-001R. The results showed broad synergistic cytotoxicity between colchicine and the inhibitor after 24 and 72 hours of co-treatment in non-resistant UFH-001 cells. Targeted combinations also demonstrated marked synergies in the UFH-001R line. Furthermore, fluorescence microscopy will be used to investigate the effects of the most effective combinations on microtubule organization, alongside their impact on cell cycle progression and apoptosis induction. These findings may offer combining colchicine with the selected P-gp inhibitor as a promising strategy to reverse efflux-mediated resistance and improve therapeutic efficacy in resistant breast cancer.

Testování endokrinní disrupce derivátů steroidů in vitro

Jméno: Bc. Veronika Kadlečková

Ročník: M2

Školitel: Ing. Eva Jablonská, Ph.D.

Endokrinní disruptory jsou látky, které se vyskytují všude kolem nás a narušují náš hormonální systém. Takové látky se mohou chovat buď jako agonisté a tím spouštět stejnou kaskádu reakcí, které způsobuje přirozený hormon, a nebo jako antagonisté a naopak kaskádu blokovat. Takové působení může vést k poruchám reprodukce, poruchám štítné žlázy, rakovině a mnoha dalším onemocněním. Tato práce se zabývá testováním nově syntetizovaných derivátů steroidů, které jsou zkoumány jako potenciální léky na inhibici tvorby efluxních pump rezistentních nádorových buněk. Endokrinní disrupce je testována pomocí reportérových testů, které fungují na principu exprese genu luciferasy po aktivaci daného steroidního receptoru. Látka, která má účinek agonisty, pak způsobí nárůst luminiscence a látka, která je antagonistou, luminiscenci naopak snižuje. Experimenty jsou prováděny s využitím reportérové buněčné linie HeLa9903, která obsahuje estrogenový receptor a linie MDA-kb2, která obsahuje androgenový a glukokortikoidní receptor. Prozatímní výsledky nepoukazují na žádné nežádoucí endokrinní účinky testovaných látek, a to ani po metabolické aktivaci.

Vliv záporných vzdušných iontů na produkci cytokinů v savčích buňkách

Jméno: Bc. Valeriia Karpenko

Ročník: M2

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

Lidé již odpradávna intuitivně vnímali příznivé účinky pobývání v horských oblastech či u moře, kde se v atmosféře přirozeně vyskytují vysoké koncentrace záporných vzdušných iontů (NAIs). Jejich hlubší působení na buněčné úrovni však zůstává do značné míry neobjasněno. Součástí NAIs je superoxid, jenž je považován za hlavní faktor zodpovědný za celkovou biologickou aktivitu těchto iontů. V buňkách je superoxid enzymaticky přeměňován na peroxid vodíku (H_2O_2). H_2O_2 přitom funguje jako klíčová signální molekula, jež v mírném množství přispívá k redoxní homeostáze a protizánětlivým účinkům. Cílem této práce bylo prozkoumat vliv záporných vzdušných iontů na savčí buňky a jejich zánětlivou odpověď. V rámci experimentální části bylo spektrofluorometricky s využitím superoxiddismutázy a Amplex Red™ dokázáno vznik H_2O_2 v médiu vystaveném NAIs. Experimenty na liniích RAW 264.7 a THP-1 ukázaly, že expozice ionizovanému vzduchu ovlivňuje metabolickou aktivitu buněk a vykazuje stimulační hormetický efekt při nízkých dávkách. Dále byla hodnocena imunologická aktivace buněk pomocí LPS a produkce vybraných zánětlivých cytokinů, což přispívá k objasnění mechanismu působení iontů na zánětlivou signalizaci.

Vliv amfetaminu na expresi c-Fos v oblastech mozkové kůry a striata

Jméno: Bc. Simona Petříková

Ročník: M2

Školitel: Prof. Ing. Tomáš Ruml, Csc.

Tato diplomová práce se zabývá neurobiologickými účinku amfetaminu a jeho vlivem na neuronální aktivitu ve striatu a mozkové kůře. Amfetamin vykazuje silné psychostimulanční a neuromodulační účinky, interaguje s dopaminovými transportéry, což vede k masivnímu uvolnění dopaminu, který ve striatálních okruzích ovlivňuje cholinergní signalizaci. Cílem práce je vyhodnotit expresi proteinu c-Fos jako spolehlivého markeru neuronální aktivity. Experimentální část využívá myší model ChAT-Cre-beta2-loxP/loxPy, u kterého byla testována aplikace amfetaminu oproti kontrolnímu fyziologickému roztoku. Zpracování tkáně zahrnovalo přípravu řezů, imunofluorescenční barvení a kvantitativní analýza v softwaru QuPath. Získaná data umožňují statistické srovnání mezi experimentálními skupinami a genotypy. Výsledky přispívají k hlubšímu pochopení dopamin-cholinergní interakce v mozku.

Účinky syntetických derivátů kyseliny betulinové a ursolové na vybrané buněčné linie

Jméno: Bc. Martin Staněk

Ročník: M2

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

V posledních desetiletích dochází k celosvětovému nárůstu pacientů s diagnostikovaným nádorovým onemocněním, přičemž současná protinádorová terapie se potýká s řadou překážek, mezi které patří vysoká toxicita terapeutik a vznik rezistence vůči léčbě. Vývoj nových účinných látek je proto neustále žádoucí. Významným zdrojem nových léčivých látek jsou již po staletí rostliny, a to především díky produkci sekundárních metabolitů. Jejich terapeutický potenciál se proto uplatňuje i ve výzkumu nových protinádorových léčiv.

Tato práce se zaměřuje na hodnocení cytotoxických účinků syntetických derivátů kyseliny betulinové a ursolové na vybraných nádorových buněčných liniích HepG2 a HOC. Jejich účinky jsou porovnávány s vlivem látek na nenádorové buněčné linii HDF s cílem posoudit selektivitu cytotoxického působení testovaných derivátů. Cytotoxické vlastnosti byly stanoveny měřením viability buněk pomocí resazurinového testu a metody xCELLigence RTCA.

Dále bude hodnocena antioxidační aktivita studovaných látek prostřednictvím testu Cellular Antioxidant Activity (CAA) na buněčné linii HepG2 a získané výsledky budou porovnány s údaji stanovenými biochemickou metodou využívající činidlo DPPH.

Dopad mírné hypoxie na mitochondriální metabolismus: pilotní studie

Jméno: Bc. Petr Voříšek

Ročník: M2

Školitel: Ing. Tomáš Podzimek Ph.D.,

Konzultant: RNDr. Hana Hansíková CSc.

Mitochondrie jsou klíčové organely pro produkci buněčné energie. V případě primárních i sekundárních dysfunkcí mitochondrií dochází k nedostatečné produkci ATP systémem oxidační fosforylace (OXPHOS), což má fatální dopad na funkci energeticky náročných tkání (svaly, nervová soustava). Vystavení buněk hypoxii vede k aktivaci hypoxií indukovatelných faktorů (HIF), které potlačí OXPHOS a zvýší hladinu glykolytických enzymů. Tento jev by mohl mít pozitivní „terapeutický“ dopad na energetický metabolismus buněk postižených deficiencí OXPHOS.

Linie kultivovaných kožních fibroblastů odvozené od pacientů s vybranými dědičnými poruchami metabolismu (DPM, s mutacemi v genech *COQ8A*, *PDSS2*, *UQCRC2* a *PMM2*) byly kultivovány 48 h při normoxii (21 % O_2) a hypoxii (1 % O_2). Metodou HRFR (high resolution fluorespirometry) byly měřeny buněčná respirace a tok extramitochondriálního Ca^{2+} v digitoninem permeabilizovaných buňkách.

U linií pacientů došlo ke snížení maximální respirace o 24 % (*COQ8A*), 86 % (*PDSS2*), 80 % (*UQCRC2)* a 100 % (*PMM2)* oproti normoxii. U kontrol došlo k poklesu o 47 % oproti normoxii. Pomocí fluorimetrického měření se nepodařilo jasně prokázat spojitost mezi mírou respirace a tokem Ca^{2+}.

Tato pilotní studie slouží jako základ pro další výzkum vlivu hypoxie na buňky s DPM.

Vliv bilirubinu na molekulární mechanismy biologických hodin v buněčném modelu HepaRG

Jméno: Bc. Karolína Watziková

Ročník: M2

Školitel: doc. Ing. Vojtěch Škop, Ph.D.

Konzultantka: doc. MUDr. Lucie Muchová, Ph.D.

Bilirubin byl dlouho považován pouze za odpadní produkt degradace hemu, v současnosti je však vnímán jako významná metabolicky aktivní molekula a antioxidant. Avšak jeho vysoké hladiny u novorozenců vedou hyperbilirubinémii s potenciálním neurotoxickým poškozením, což vyžaduje léčbu fototerapií modrým světlem. Cirkadiánní rytmus synchronizuje fyziologické a metabolické procesy prostřednictvím transkripčně-translačních zpětnovazebných smyček, kde klíčovou roli hraje transkripční faktor BMAL1. Ten je negativně regulován jaderným receptorem RevERB, který ke své aktivaci vyžaduje enzym histondeacetylázu 3 (HDAC3). Vzhledem ke strukturní podobnosti bilirubinu a hemu existuje předpoklad, že bilirubin může modulovat vazbu na RevERB nebo ovlivňovat stabilitu komplexu s HDAC3, a působit tak jako narušitel cirkadiánního rytmu. Cílem této práce bylo sledovat vliv bilirubinu na expresi těchto cirkadiánních genů. Diferencované jaterní buňky HepaRG byly vystaveny koncentracím bilirubinu 5 a 25 µM a následně sklízeny v časovém intervalu 0 až 30 hodin. Po izolaci RNA a reverzní transkripci byla metodou qPCR stanovena relativní exprese genů *BMAL1*, *RevERB* a *HDAC3* s normalizací vůči referenčnímu genu *HPRT*. Výsledky této práce poskytnou vhled do dynamiky narušení exprese těchto genů.

Studium kombinovaného účinku kyseliny palmitové a T-2 toxinu v in vitro modelu jaterní steatózy

Jméno: Bc. Jiří Zvoníček

Ročník: M2

Školitel: doc. Jaroslav Zelenka, Ph.D.

Nealkoholové ztučnění jater (NAFLD/MASLD) představuje jedno z nejrozšířenějších onemocnění jater, k jehož prevenci či podpůrné léčbě se často využívají doplňky stravy s obsahem silymarinu z ostropestřce mariánského (*Silybum marianum*). Tyto preparáty však mohou být kontaminovány mykotoxiny, z nichž významným zástupcem je trichothecenový T-2 toxin. Cílem této práce bylo zavést *in vitro* model jaterní steatózy a vyhodnotit kombinovaný účinek akumulace lipidů a expozice T-2 toxinu na jaterní linii HepG2.

Model steatózy byl navozen inkubací buněk s kyselinou palmitovou a akumulace intracelulárních lipidů byla ověřena holotomografií a fluorescenční mikroskopií. Cytotoxický účinek samotného T-2 toxinu i jeho kombinace s mastnou kyselinou byl stanoven pomocí fluorescenčního resazurinového testu viability. Získaná data umožňují posoudit, zda přítomnost lipidové zátěže modifikuje citlivost hepatocytů k cytotoxickému působení T-2 toxinu. Práce tak přináší základní poznatky o chování steatotických jaterních buněk při expozici sekundárním toxickým látkám.

Produkce a charakterizace proteinů

MÍSTO:

prostory ústavu 320

KOMISE:

doc. Ing. Jan Lipov, Ph.D.

Ing. Jan Sácký, Ph.D.
Ing. Jiřina Kaufmanová, Ph.D.
Ing. Silvie Rimpelová, Ph.D.

STUDENTI:

BC. KATEŘINA ELIÁŠOVÁ (M2, *Ing. Eva Benešová, Ph.D.*)
Rekombinantní produkce L-asparaginasy z *Dickeya dadantii*

BC. DAJANA KOLÁŘOVÁ (M2, *Ing. Pavel Vopálenský, Ph.D.*)
Characterization of putative *E. coli* ligase and NTPase operon

BC. KAMILA KUČEROVÁ (M2, *Ing. Barbora Svobodová, Ph.D., Mgr. Tereza Ormsby, Ph.D.*)
Production and characterization of the recombinant extracellular domain of murine immunoreceptor CD64

BC. DAVID MACHÁČEK (M2, *Ing. Petr Svoboda, Ph.D.*)
Produkce a purifikace vybraných lidských methyltransferas

BC. ANETA MACHOVÁ (M2, *Ing. Tomáš Podzimek, Ph.D.*)
Příprava a charakterizace monomerní formy medicinální L-asparaginasy II z *E. coli* (EcAII)

BC. ADAM MICHNA (M2, *doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.*)
Charakterizace methyltransferasy ArmA a vývoj metody stanovení její aktivity

BC. NATÁLIE RUČKOVÁ (M2, *prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.*)
Příprava proteinu nsp13 viru SARS-CoV-2 pro fluorescenční stanovení jeho helikasové aktivity

MICHAL VEVERKA (B3, *Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.*)

Production and Purification of an Inactive Variant of the SARS-CoV-2 Non-Structural Protein 15 for Interaction Studies

Rekombinantní produkce L-asparaginasy z Dickeya dadantii

Jméno: Bc. Kateřina Eliášová

Ročník: M2

Školitel: Ing. Eva Benešová, Ph.D.

Biologická léčiva tvoří stále významnější součást farmaceutického výzkumu a v roce 2025 již představovala téměř polovinu sledovaných léčiv ve vývoji. Mezi dlouhodobě studovaná bioléčiva patří L-asparaginasa, enzym používaný při léčbě akutní lymfoblastické leukemie. L-Asparaginasa katalyzuje hydrolýzu L-asparaginu, čímž snižuje jeho dostupnost pro nádorové buňky závislé na přísunu této aminokyseliny z okolí. V terapii se převážně využívá enzym původem z bakterie *Escherichia coli*, v případě hypersenzitivity se přistupuje k alternativní léčbě pomocí enzymu získaného z bakterie *Dickeya dadantii.* Současná medicína se však stále potýká s výskytem nežádoucích účinků, což motivuje vývoj nových variant L-asparaginasy.

Tato práce se zabývá rekombinantní produkcí, izolací a charakterizací L-asparaginasy z *D. dadantii*. Enzymová charakterizace výchozí formy L-asparaginasy má poskytnout referenční údaje pro budoucí hodnocení jejích mutantních variant. Pro produkci byly využívány dva kmeny *E. coli* a v nynější době je otestováno jedenáct produkčních podmínek. Ve třech případech byl získán purifikovaný protein, avšak nadále se bude pracovat na zlepšení podmínek produkce.

Characterization of putative E. coli ligase and NTPase operon

Jméno: Bc. Dajana Kolářová

Ročník: M2

Školitel: Ing. Pavel Vopálenský, Ph.D.

A bioinformatic screen for putative RNA repair enzymes in *Escherichia coli* identified an uncharacterized operon encoding two putative enzymes: an RNA ligase in tandem with an NTPase. Notably, this operon is absent from laboratory strains; however, it is conserved in wild pathogenic strains. In this project, we aimed to decipher the function of this novel operon combining diverse bioinformatics tools and biochemical characterization. Phylogenetic analysis confirmed high sequence conservation of these two enzymes across *Enterobacteriaceae*. Furthermore, the operon is flanked by transposable elements, suggesting that it represents a mobile genomic cassette likely acquired via horizontal gene transfer. Focusing on the putative NTPase, structural modeling and homology searches revealed a two-domain HD/P-loop architecture coordinating divalent cations and nucleotides. To guide *in vitro* reaction conditions, a custom machine learning model predicting optimal catalytic pH was implemented. This project provides a comprehensive predictive framework for functional characterization of this novel operon.

Production and characterization of the recombinant extracellular domain of murine immunoreceptor CD64

Jméno: Bc. Kamila Kučerová

Ročník: M2

Školitel: Ing. Barbora Svobodová, Ph.D., Mgr. Tereza Ormsby, Ph.D.

CD64 is a transmembrane glycoprotein that binds the Fc region of antibodies and is constitutively expressed on monocytes and macrophages, as well as on certain acute myeloid leukemia (AML) cells. Its expression makes CD64 a promising candidate for targeted therapies. However, preclinical evaluation of CD64-targeted polymer conjugates in conventional mouse models is limited by the lack of a suitable low-molecular-weight ligand for murine CD64.

To establish recombinant murine CD64 for binding studies, constructs encoding its extracellular domain with either a His-tag or an Avi-tag were cloned, expressed and purified by affinity and size-exclusion chromatography. SDS-PAGE revealed heterogeneous glycosylation, which was confirmed by PNGase F treatment, and fractions with different glycosylation profiles were retained separately. The recombinant proteins will be validated using antibodies in ELISA and SPR assays and used to establish conditions for future ligand-binding studies. The effect of glycosylation on binding will also be assessed.

These recombinant proteins provide the basis for establishing binding assays and identifying ligands suitable for the development of CD64-targeted polymer conjugates for preclinical studies in mice.

Produkce a purifikace vybraných lidských methyltransferas

Jméno: Bc. David Macháček

Ročník: M2

Školitel: Ing. Petr Svoboda, Ph.D.

Proteinové lysin-methyltransferasy katalyzují přenos methylové skupiny z kofaktoru *S*-adenosyl-L-methioninu na specifické lysinové zbytky histonů i dalších proteinů. Tyto posttranslační modifikace ovlivňují uspořádání chromatinu a transkripční aktivitu, čímž se podílejí na řízení genové exprese a udržování genomové stability. Dysregulace některých těchto enzymů přispívá k rozvoji onkologických onemocnění, a proto jsou studovány v souvislosti s vývojem nových léčiv. Cílem této práce je rekombinantní produkce a purifikace katalytické domény lidské methyltransferasy SETDB1 a vybraných methyltransferas G9a, SMYD2 a SMYD3. Pro přípravu SETDB1 byly naklonovány dva plazmidové konstrukty pro bakteriální koexpresi a jeden konstrukt pro hmyzí buňky. Produkce SETDB1 byla testována v několika kmenech *Escherichia coli* a různých kultivačních médiích. Přestože se podařilo protein afinitně izolovat a potvrdit hmotnostní spektrometrií, výtěžky zůstávaly velmi nízké. Byla proto připravena bacmidová DNA a rekombinantní bakuloviry pro expresi v hmyzích buňkách Sf9, kde však byla produkce rovněž zanedbatelná. Současně byla v bakteriích zavedena produkce a izolace methyltransferas G9a, SMYD2 a SMYD3. Další práce se zaměří na purifikaci proteinů a stanovení jejich enzymové aktivity.

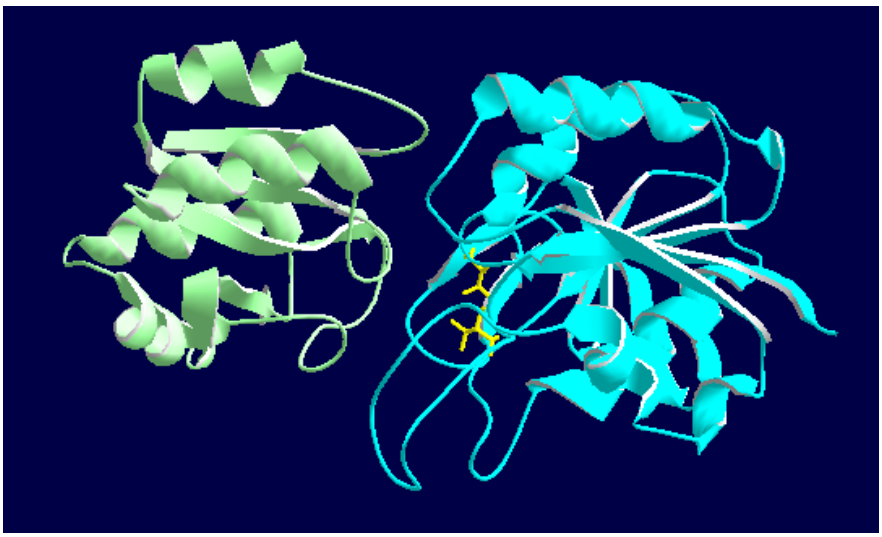
Příprava a charakterizace monomerní formy medicinální L-asparaginasy II z E. coli (EcAII)

Jméno: Bc. Aneta Machová

Ročník: M2

Školitel: Ing. Tomáš Podzimek, Ph.D.

Bakteriální L-asparaginasy jsou enzymy klíčové pro léčbu akutní lymfoblastické leukemie. Tato léčba u části pacientů vyvolává vedlejší účinky, které bývají vyvolané například imunitní reakcí na bakteriální enzym. Proto se hledají nové formy L-asparaginas. Bakteriální L-asparaginasa II z *E. coli* (EcAII) je homotetramer. Každý monomer je složený z N-terminální katalytické a C-terminální stabilizační domény, které jsou spojené linkerem. Tyto dvě domény, každá z jiného monomeru, spolu dotvářejí aktivní místo. Cílem této práce je ověřit možnost fyzického oddělení obou domén EcAII a sledovat jejich interakce *in vitro*. V případě, že by dokázaly samy utvořit aktivní místo, mohl by tento přístup vést k posouzení možnosti vytvoření redukované formy L-asparaginasy, která by nemusela být tak imunogenní, jako současně používaná verze. Během práce byly vytvořeny dva plazmidy, obsahující jednotlivé domény EcAII. Nyní je projekt ve fázi produkce domén v kmeni *E. coli* BL21(DE3) a jejich purifikace. Bude-li zjištěna aktivita takovéto redukované formy L-asparaginasy, mohla by být potenciálně další variantou již používaných L-asparaginas.



Charakterizace methyltransferasy ArmA a vývoj metody stanovení její aktivity

Jméno: Bc. Adam Michna

Ročník: M2

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

Vzrůstající rezistence patogenních bakterií vůči antibiotikům představuje závažný globální zdravotnický problém. Významným mechanismem rezistence je produkce ribozom-methyltransferas, jako je 16S rRNA-methyltransferasa ArmA, která modifikuje vazebné místo aminoglykosidových antibiotik na bakteriálním ribozomu. Cílem této práce je izolace a charakterizace enzymu ArmA a zavedení robustní enzymové eseje pro stanovení jeho aktivity, což představuje klíčový předpoklad pro budoucí vysokokapacitní testování potenciálních inhibitorů. V první fázi projektu byl připraven plazmid nesoucí gen *armA,* kterým byly úspěšně transformovány buňky *Escherichia coli*. Funkčnost exprimovaného enzymu byla potvrzena *in vivo* stanovením minimální inhibiční koncentrace (MIC) vybraných aminoglykosidů. Aktivita purifikovaného enzymu ArmA byla ověřena pomocí bezbuněčného translačního systému *in vitro*. Pro spektrofotometrické měření aktivity methyltransferas vhodné k vysokokapacitnímu testování inhibitorů ArmA byla navržena série reakcí vedoucí ke kolorimetrické detekci produktu spřažených reakcí. K realizaci této spřažené eseje byl syntetický gen kódující využívaný enzym klonován, enzym byl vyprodukován a následně komplexně kineticky charakterizován. Bylo určeno jeho pH optimum, zhodnocen vliv kofaktorů, stanovena afinita k substrátu (K_M) a úspěšně prokázána jeho funkční stabilita. V navazující fázi práce proběhne izolace ribozomálních podjednotek z *Acinetobacter baumannii* pomocí sacharosové hustotní gradientové ultracentrifugace. Izolované podjednotky poslouží jako nativní substrát pro finální sestavení a optimalizaci spřažené detekční eseje.

Příprava proteinu nsp13 viru SARS-CoV-2 pro fluorescenční stanovení jeho helikasové aktivity

Jméno: Bc. Natálie Ručková

Ročník: M2

Školitel: prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

SARS-CoV-2, původce onemocnění COVID-19, je obalený RNA virus, jehož replikaci zajišťuje replikačně-transkripční komplex (RTC), který je složen z nestrukturních proteinů (nsp). Jedním z klíčových enzymů tohoto komplexu je nsp13, virová helikasa, která se podílí na rozplétání dvouřetězcových struktur RNA. Díky své nezbytnosti pro virovou replikaci a evoluční konzervovanosti představuje nsp13 také potenciální cíl pro vývoj antivirotik.

První část práce se zaměřila na produkci proteinu nsp13, která byla testována ve třech expresních kmenech bakterie *Escherichia coli* a dvou kultivačních médiích, Lysogeny Broth a Terrific Broth. Následovala velkoobjemová produkce, vícestupňová purifikace a ověření helikasové aktivity získaného proteinu pomocí zavedeného elektroforetického stanovení. Druhá část práce je zaměřena na zavedení fluorescenční metody pro stanovení helikasové aktivity nsp13 založené na rozplétání fluorescenčně značeného RNA substrátu. Tato metoda umožní sledování aktivity nsp13 v reálném čase, což najde uplatnění při studiu fungování RTC, vlivu evolucí konzervovaných mutací či screeningu potenciálních inhibitorů nsp13.

Production and Purification of an Inactive Variant of the SARS-CoV-2 Non-Structural Protein 15 for Interaction Studies

Jméno: Michal Veverka

Ročník: B3

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

SARS-CoV-2 causes a respiratory disease known as COVID-19 and has affected millions of people. SARS-CoV-2 non-structural protein 15 (nsp15) functions as a uridine-specific endoribonuclease, enabling the virus to evade the host immune system by cleaving poly-uridine sequences within negative-sense RNA and dsRNA replication intermediates which act as Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs). Consequently, nsp15 represents a potential therapeutic target. This study is aimed at interaction of nsp15 with other nsps as it may function as a central scaffold for the Replication-Transcription Complex (RTC)[1] which the virus uses to replicate and transcribe the genome within an infected host cell. Nsp10 was chosen as a predicted binding partner.

Vector encoding inactive variant of nsp15 in fusion with GST was generated by site-directed mutagenesis to produce this fusion protein in bacterial expression system. GST-nsp15 was produced and purified. Furthermore, GST and nsp10 proteins were also produced and subsequently purified. The interaction of nsp15 with nsp10 will be examined by GST-pull down using glutathione magnetic beads, with GST as a negative interaction control. This approach will be extended to other nsps to further investigate the interactions within the RTC.

[1]PERRY, Jason K., et al. An atomistic model of the coronavirus replication-transcription complex as a hexamer assembled around nsp15. *Journal of Biological Chemistry*, 2021, 297.4.

Ústav sacharidů a cereálií (321)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

doc. Ing. Roman Bleha, Ph.D.

SEZNAM SEKCÍ: CHEMIE A TECHNOLOGIE SACHARIDŮ

1. Ústav sacharidů a cereálií

SPONZOŘI - ÚSTAV SACHARIDŮ A CEREÁLIÍ













Ústav sacharidů a cereálií

MÍSTO: B 40 KNIHOVNA ÚSTAVU

KOMISE

předsedkyně: doc. Ing. Marcela sluková, Ph.D.

členové: prof. Mgr. Andrij Sinica, Ph.D.

doc. Ing. Svatopluk Henke, Ph.D.

INg. Petra Smrčková, Ph.D.

PROGRAM

09:00 zahájení

9:10 Bc. Jáchym Šilha (M2, *Ing. Simona Gillarová, Ph.D.*)
Vliv činnosti mikroorganismů na kvalitu cukerných šťáv

9:25 Bc. Marharyta Zhovnarenko (M2, *doc. Ing. Marcela Sluková, Ph.D.*)
Hnědnutí kůrky chleba: kinetická studie za řízených experimentálních podmínek

9:40 Bc. Mark Panchenko (M2, *Ing. Simona Gillarová, Ph.D.*)
Stanovení pektinových látek v cukerných šťávách

9:55 Bc. Markéta Bauerová (M2, *Ing. Petra Smrčková Ph.D.*)
Extrudované výrobky na bázi luštěnin a vliv chemického složení na jejich nutriční a senzorické vlastnosti

10:10 Bc. Matyáš Fryček (M1, *doc. Ing. Roman Bleha Ph.D., prof. Ing. Irena Jarošová Ph.D.*)
Vliv netermálního plazmatu na inhibici mikroorganismů vinných kalů

10:25 Bc. Olga Martynková (M2, *doc. Ing. Marcela Sluková, Ph.D.*)
Vývoj cereální směsi pro výrobu chleba se zvýšenou nutriční hodnotou

Vliv činnosti mikroorganismů na kvalitu cukerných šťáv

Bc. Jáchym Šilha

M2

Ing. Simona Gillarová, Ph.D.

Cukrovarnický průmysl patří mezi významná odvětví potravinářského průmyslu, kde je kladen velký důraz na kvalitu zpracování surovin a na stabilitu technologických procesů s minimalizací ztrát surovin. Jedním z hlavních faktorů, jenž významně ovlivňuje účinnost výroby cukru z cukrové řepy, je mikrobiální kontaminace, která může negativně zasáhnout do jednotlivých fází zpracování. Z toho důvodu je nutné mikrobiální aktivitu pravidelně sledovat a hledat ty nejúčinnější způsoby, jak omezit její vliv.

V rámci výzkumu byla sledována účinnost antimikrobiálního prostředku na bázi dioxidu chloru ClO2 v porovnání s běžně používaným technickým formalinem. Porovnávání bylo uskutečněno stanovením mikrobiálních produktů vzniklých ze sacharosy, jako je kyselina l-mléčná nebo d-mannitol, metodami enzymatickou fotometrií, měřením pH, kapilární izotachoforézou a kapalinovou chromatografií.

Hnědnutí kůrky chleba: kinetická studie za řízených experimentálních podmínek

Bc. Marharyta Zhovnarenko

M2

doc. Ing. Marcela Sluková, Ph.D.

Barva kůrky chleba je důležitým ukazatelem tepelného zpracování, avšak samotná teplota pece nebo doba pečení nevystihují rychlost hnědnutí jednoznačně. Cílem práce bylo ověřit, zda kumulativní tepelná expozice, vyjádřená integrálem teploty vzduchu nad zvolenou referenční hodnotou, popisuje ztmavnutí kůrky zaznamenané kamerou konzistentněji než samotný čas pečení. Studie vychází ze tří laboratorních pečicích experimentů s odlišnými reálnými teplotními historiemi, v nichž byla teplota vzduchu u pečiva a uvnitř výrobku porovnána s optickými souhrny v barevném prostoru HSV. Výsledky mají sloužit jako základ pro další studium hnědnutí a pro řízení procesu pečení.

Stanovení pektinových látek v cukerných šťávách

Bc. Mark Panchenko

M2

Ing. Simona Gillarová, Ph.D.

Pektinové látky jsou významnými necukernými složkami cukerných šťáv, které zvyšují jejich viskozitu a zhoršují filtraci a krystalizaci sacharosy. Cílem práce bylo charakterizovat průmyslové surové řepné šťávy z cukrovaru Tereos TTD, a.s. (Dobrovice, ČR) a porovnat dvě metody stanovení pektinových látek. Po odstranění mechanických nečistot byly pektiny ze šťávy vysráženy alkoholem, odděleny a vysušeny. První metodou byla kolorimetrická metoda ICUMSA GS8-23, založená na reakci kyseliny galakturonové s 3-hydroxydifenylem; absorbance byla měřena při 520 nm. Druhá metoda zahrnovala kyselou hydrolýzu precipitátu pomocí 0,5M HCl nebo 0,5M H_2SO_4 a následné stanovení kyseliny galakturonové metodou vysokoúčinné aniontově výměnné kapalinové chromatografie s pulzní amperometrickou detekcí (HPAEC-PAD). Její koncentrace byla v obou případech přepočtena na obsah pektinových látek faktorem 0,83. Obě metody vykazovaly shodný trend mezi vzorky. Metoda ICUMSA GS8-23 se ukázala jako vhodná pro rutinní analýzy díky nižším nárokům na přístrojové vybavení a spolehlivým výsledkům. Metoda HPAEC-PAD poskytla selektivnější stanovení kyseliny galakturonové a umožnila analýzu dalších monosacharidů.

Extrudované výrobky na bázi luštěnin a vliv chemického složení na jejich nutriční a senzorické vlastnosti

Bc. Markéta Bauerová

M2

Ing. Petra Smrčková Ph.D.

Luštěniny patří mezi širokou skupinu rostlin konzumovaných již po staletí. Ceněny jsou zejména pro vysoký obsah rostlinných bílkovin, vlákniny, vitaminů a minerálních látek. Jejich pravidelná konzumace je spojena se snížením rizika kardiovaskulárních onemocnění a diabetu 2. typu, čehož je dosaženo mimo jiné i díky pomalejšímu průběhu glykemické křivky po jejich konzumaci. V posledních letech roste zájem o zdroje rostlinných bílkovin, a proto jsou luštěniny atraktivní surovinou pro výrobu nutričně zajímavých produktů.

Praktická část práce se zaměřuje na výrobu luštěninových mouk, premixů z nich a jejich extruzi snáslednou analýzu vyrobených extrudátů. Pozornost je věnována zejména gravimetrickým metodám, reologickému chování, stravitelnosti a texturním vlastnostem. Součástí praktické části je i proces postextruzní úpravy extrudovaných výrobků a jejich následné senzorické hodnocení.

Vliv netermálního plazmatu na inhibici mikroorganismů vinných kalů

Bc. Matyáš Fryček

M1

doc. Ing. Roman Bleha Ph.D., prof. Ing. Irena Jarošová Ph.D.

Úspěšnost výroby vína velmi závisí na dodržování provozní hygieny, neboť riziko mikrobiální kontaminace je neustálé. Významným zdrojem tohoto nebezpečí je vinný kal a jím znečištěná zařízení. Běžné postupy sanitace jsou však ekonomicky nákladné a zatěžují životní prostředí. Slibnou ekologickou alternativu představuje využití netermálního plazmatu (NTP).

Cílem této práce bylo ověřit inhibiční účinek NTP na mikroorganismy přítomné ve vinném kalu. Vzorky reálných kalů z bílého i červeného vína byly ošetřeny dvěma různými zdroji plazmatu lišícími se spektrem generovaných reaktivních částic. Účinnost byla hodnocena měřením relativní metabolické aktivity a doplňkově kultivací na agarových plotnách. Výsledky potvrdily, že ošetření NTP vedlo k poklesu metabolické aktivity mikroorganismů oproti neošetřené kontrole, přičemž vyšší citlivost vykazovaly vzorky červeného kalu. Silnější inhibiční efekt byl zaznamenán u suspenzí s vyšší výchozí koncentrací mikroorganismů. Získané poznatky potvrzují antimikrobiální potenciál NTP jako udržitelné metody sanitace ve vinařském průmyslu.

Vývoj cereální směsi pro výrobu chleba se zvýšenou nutriční hodnotou

Bc. Olga Martynková

M2

doc. Ing. Marcela Sluková, Ph.D.

Cílem práce je vytvořit cereální směs na přípravu speciálního chleba s nižším glykemickým indexem a vyšším obsahem prebiotické vlákniny, zejména rezistentního škrobu. U vstupních surovin (mouk) byla provedena základní analýza složení se zaměřením na frakce vlákniny a obsah rezistentního škrobu.

Byla připravena první verze pšeničné závařky (vařené mouky), u které bylo provedeno stanovení rezistentního škrobu. V následující fázi proběhne příprava dalších závařek za odlišných podmínek a s využitím různých směsí mouk, které budou následně použity k upečení speciálního chleba.

Ústav mléka, tuků a kosmetiky (322)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

SEZNAM SEKCÍ

1. Chemie a technologie mléka, tuků a kosmetiky I

2. Chemie a technologie mléka, tuků a kosmetiky II

SPONZOŘI - ÚSTAV SACHARIDŮ A CEREÁLIÍ

Kosmetologická společnost ČR

MADETA

est. 1991
MANUFAKTURA

HSH Chemie

Sekce 1 – Chemie a technologie mléka, tuků a kosmetiky 1

MÍSTO: B02

KOMISE

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

doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.

doc. Ing. Jan Kyselka, Ph.D.

PROGRAM

9:00 zahájení

9:10 Bc. NELL MELISA HERÁKOVÁ (M2*, doc. Ing. Ladislav Čurda, CSc.*)
Vliv různých způsobů ošetření na biologicky aktivní složky mateřského mléka

9:30 Bc. LADISLAVA TŘASÁKOVÁ (M2*, Ing. Veronika Brychová, Ph.D*)
Využití molekulárně-specifické radiouhlíkové analýzy pro datování mastných kyselin izolovaných ze vzorků s nízkou vstupní hmotností

9:50 Bc. JANA VONEŠOVÁ (M2*, Ing. Blanka Vrchotová, Ph.D.*)
Charakterizace bakterií izolovaných ze sýra v průběhu zrání

10:10 Bc. DOMINIKA SIMANDLOVÁ (M2*, Ing. Veronika Brychová, Ph.D.l*)
Nepolární degradační produkty bílkovin jako nové teplotní biomarkery pro rekonstrukci užitné funkce archeologických nádob

10:30 Bc. POLINA POPOVA (M1*, Ing. Blanka Vrchotová, Ph.D.*)
Izolace a identifikace nezákysových bakterií ze sýrů Gouda

10:50 VANNARO YOY, BSc. (M2*, doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.*)
Effect of milk to oat beverage ratio on the properties of fermented hybrid products.

11:45 vyhlášení výsledků

Vliv různých způsobů ošetření na biologicky aktivní složky mateřského mléka

Bc. Nell Melisa Heráková

M2

doc. Ing. Ladislav Čurda, CSc.

Dárcovské mateřské mléko se v bankách mateřského mléka standardně ošetřuje Holderovou pasterací (62,5 °C/30 min), která zajišťuje mikrobiologickou bezpečnost, ale zároveň snižuje obsah a aktivitu biologicky aktivních složek, jako jsou imunoglobuliny, laktoferin nebo lysozym. Šetrnější alternativou může být ošetření vysokým tlakem. Cílem práce bylo zhodnotit vliv tepelného (62,5 °C/30 min, 85 °C/5 min a 85 °C/30 min) a tlakového ošetření na strukturu proteinů a aktivitu lysozymu v mateřském mléce a porovnat jeho chování s mlékem kravským. Změny struktury proteinů byly sledovány stanovením primárních aminoskupin (OPA metoda), UV spektrofotometrií a pomocí fluorescenčního emisního spektra. Aktivita lysozymu byla měřena turbidimetricky na suspenzi *Micrococcus luteus*.

U kravského mléka vedlo intenzivnější tepelné ošetření k poklesu fluorescence, což odpovídá denaturaci a agregaci proteinů, zatímco u mateřského mléka fluorescence rostla, což naznačuje rozvolnění proteinové struktury. Aktivita lysozymu zůstala po pasteraci zachována, záhřev na 85 °C ji však výrazně snížil. Změny vyvolané tlakovým ošetřením jsou u většiny sledovaných parametrů minimální.

Využití molekulárně-specifické radiouhlíkové analýzy pro datování mastných kyselin izolovaných ze vzorků s nízkou vstupní hmotností

Bc. Ladislava Třasáková

M2

Ing. Veronika Brychová, Ph.D.

Radiouhlíkové datování, využívající přeměnu radioizotopu ^{14}C, umožňuje určovat stáří materiálů organického původu, jeho využití při analýze historických maleb je však omezeno malým množstvím dostupného organického uhlíku a možnou přítomností dalších zdrojů uhlíku. Molekulárně-specifická radiouhlíková analýza umožňuje zaměřit datování na jednotlivé izolované sloučeniny, například mastné kyseliny z olejových pojiv, a tím omezit vliv jiných uhlíkatých složek vzorku.

Experimentální část práce se zaměřuje na přípravu modelových organických pojivových směsí a vývoj postupu pro izolaci mastných kyselin s využitím preparativní plynové chromatografie za účelem jejich následného molekulárně-specifického radiouhlíkového datování. U modelových vzorků byly provedeny extrakční a derivační postupy a analýza methylesterů mastných kyselin s využitím plynové chromatografie s plamenově ionizační detekcí (GC-FID). Současně probíhá ověřování a optimalizace separace standardní směsi mastných kyselin pomocí preparativní plynové chromatografie. Cílem je získat dostatečné množství cílových sloučenin v odpovídající čistotě pro následnou analýzu metodou urychlovačové hmotnostní spektrometrie (AMS).

Charakterizace bakterií izolovaných ze sýra v průběhu zrání

Bc. Jana Vonešová

M2

Ing. Blanka Vrchotová, Ph.D.

Tato práce se zabývá charakterizací nezákysových bakterií mléčného kvašení izolovaných ze sýra typu Gouda v průběhu zrání. Hlavním cílem je posoudit jejich bezpečnost a technologický potenciál z hlediska kvality a senzorických vlastností sýra.

V první fázi bylo u 140 izolátů provedeno hodnocení proteolytické a lipolytické aktivity a stanovení citlivosti k antibiotikům. Zatímco proteolytická a lipolytická aktivity přispívají k rozvoji chuti, aromatu a textury sýra, testování citlivosti k antibiotikům představuje důležitý bezpečnostní parametr. Na základě výsledků screeningu bylo vybráno 10 izolátů, které byly identifikovány metodou MALDI-TOF MS a byla u nich určena minimální inhibiční koncentrace vůči 9 antibiotikům. Následně bylo vybráno 5 kmenů vykazujících nejvhodnější kombinaci sledovaných vlastností.

V druhé fázi byly u těchto pěti kmenů sledovány vlastnosti významné z hlediska jejich potenciálního využití v sýrařství. Byla měřena antimikrobiální, antifungální a antikvasinková aktivita za účelem posouzení jejich bioprotektivního účinku. Dále byla sledována schopnost růstu v prostředí se zvýšenou koncentrací soli. Růst kmenů v mléce byl hodnocen prostřednictvím změn pH, produkce organických kyselin, růstu bakteriální populace a proteolytické aktivity stanovené metodou OPA.

Nepolární degradační produkty bílkovin jako nové teplotní biomarkery pro rekonstrukci užitné funkce archeologických nádob

Bc. Dominika Simandlová

M2

Ing. Veronika Brychová, Ph.D.

Organická reziduální analýza archeologické keramiky umožňuje získávat informace o původním využití keramických nádob na základě identifikace organických látek zachovaných v jejich porézní struktuře. Zatímco rezidua lipidů mohou v keramice dlouhodobě přetrvávat, bílkoviny většinově podléhají degradačním procesům. Při tepelném zpracování bílkovin však mohou vznikat cyklické amidy, zejména 2,5-diketopiperaziny, které by mohly představovat potenciální biomarkery tepelné úpravy potravin i v archeologickém kontextu.

Cílem práce je posoudit, zda jsou vybrané cyklické amidy s rozdílnou hydrofilně-lipofilní povahou (HLB) schopné sorpce v modelové keramice i v keramice pocházející z archeologického kontextu. V experimentální části byly proto na základě HLB hodnot vybrány a syntetizovány cyklické amidy, u kterých byla následně provedena sorpce do modelové keramiky při různých koncentracích. Dalším cílem bude extrakce sorbovaných látek, jejich kvantifikace metodou plynové chromatografie s plamenově ionizační detekcí (GC-FID) a stanovení adsorpčních parametrů. Součástí práce bude také screening vybraných vzorků archeologické keramiky, která byla v minulosti používána na vaření, na přítomnost cyklických amidů.

Izolace a identifikace nezákysových bakterií ze sýrů Gouda

Bc. Polina Popova

M2

Ing. Blanka Vrchotová, Ph.D.

Při výrobě sýrů se do mléka v počáteční fázi přidává směs mléčných bakterií, které přeměnou laktózy na kyselinu mléčnou zahajují fermentaci a tím podporují vznik sýřeniny, vytváří kyselé prostředí a ovlivňují výslednou texturu, chuť a vůni sýra. Však kromě těchto záměrně přidaných zákysových bakterií se do sýra mohou dostat i nezákysové bakterie, z prostředí sýrárny, mléka nebo technologického vybavení. Tyto mikroorganismy mohou přispívat k rozvoji chuti a vůně, ale také způsobovat nežádoucí změny, a proto je jejich identifikace důležitá pro kontrolu kvality.

Cílem této práce bylo sledování výskytu nezákysových bakterií v polotvrdém sýru Gouda a určení, zda jejich přítomnost je spojena s výrobcem, specifickými podmínkami výroby anebo typem použitého mléka.

K izolaci bakterií byly využity kultivační metody na selektivních živných médiích. Následná genetická charakterizace izolátů byla provedena pomocí metody rep-PCR s primery $(GTG)_5$ a získané profily byly využity k posouzení jejich vzájemné příbuznosti.

Práce přispívá k poznání variability nezákysové bakteriální mikrobioty sýrů Gouda a jejího možného vztahu k původu a podmínkám výroby.

Effect of milk to oat beverage ratio on the properties of fermented hybrid products

Vannaro Yoy, BSc.

M2

doc. Ing. Šárka Horáčková, CSc.

The growing interest in more sustainable, plant-rich diets has driven the development of alternatives to conventional dairy products. This study investigated the properties of five milk-to-oat mixtures (100:0, 75:25, 50:50, 25:75, and 0:100, v/v) fermented with yogurt culture YC 381 at 30 °C for 24 h. The products were evaluated for pH, dry matter and protein content, organic acid concentrations, viable cell counts, water-holding capacity, rheological properties, and colour. *Streptococcus thermophilus* grew well in all formulations, whereas *Lactobacillus delbrueckii* grew in milk-containing blends but declined in the pure oat beverage. Increasing the oat proportion affected all measured parameters. Furthermore, the growth of *Lactiplantibacillus plantarum* 299v in milk and oat beverage was evaluated based on changes in pH, viable cell counts, and organic acid concentrations. These experiments indicated that the oat beverage provided a more favourable substrate for *L. plantarum* growth than milk.

Sekce 2 – Chemie a technologie mléka, tuků a kosmetiky 2

MÍSTO: B08

KOMISE

doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D. (předseda)

doc. Ing. Iveta Klojdová, Ph.D.

Ing. Blanka Vrchotová, Ph.D.

PROGRAM

9:00 zahájení

9:10 Bc. LENKA ZIKMUNDOVÁ (M2*, doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.*)
Lipidické složení kožního mazu v závislosti na ročním období

9:30 Bc. VERONIKA CHOUROVÁ (M2*, doc. Ing. Iveta Klojdová, Ph.D.*)
Komplexní koloidní systémy pro přípravu funkčních potravin

9:50 Bc. DORA ČERMÁKOVÁ (M2*, Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.*)
Stabilizace kosmetické emulze pomocí mastných kyselin z ricinového oleje

10:10 Bc. KLÁRA CHVÁTALOVÁ (M2*, doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.*)
Integrace léčiva pro atopickou dermatitidu do různých fyzikálních systémů pro dermální aplikaci

10:30 Bc. KAROLÍNA JANDOVÁ (M2*, doc. Ing. Iveta Klojdová, Ph.D*)
Vývoj přípravků na bázi koloidních systémů s obsahem bioaktivních látek

10:50 Bc. ANDREA JANOUŠKOVÁ (M2*, Ing. Tereza Honzíková, Ph.D.*)
Analýza lecithinů

11:45 vyhlášení výsledků

Lipidické složení kožního mazu v závislosti na ročním období

Bc. Lenka Zikmundová

M2

doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

Povrchové lipidy pokožky jsou tvořené v epidermis a v mazových žlázách. Svým složením se lipidy stratum corneum a lipidy kožního mazu liší. Ve stratum corneum tvoří lipidovou matrix ceramidy, cholesterol, deriváty cholesterolu a volné mastné kyseliny. V mazových žlázách je produkována směs triacylglycerolů, vosků, volných mastných kyselin, skvalenu, cholesterolu a jeho derivátů. Na produkci a složení povrchových lipidů pokožky má vliv mnoho vnitřních a vnějších faktorů. Z vnějších faktorů hrají roli například roční období, expozice UV záření a péče o pleť. Z vnitřních faktorů se uplatňuje genetické pozadí, pohlaví, věk, etnicita, stresová zátěž, životní styl, obezita a další onemocnění.

Cílem této práce bylo stanovení povrchových lipidů pokožky získaných ze stěrů čela a skalpu u pěti dobrovolníků mužského pohlaví ve věku 28 až 32 let. Bylo zjištěno celkové množství povrchových lipidů pokožky a skalpu, zastoupení mastných kyselin, obsah cholesterolu a svalenu. K analýze bylo využito plynové chromatografie s plamenově ionizačním detektorem. Srovnány byly výsledky z jarního a letního období 2026. Mezi nejvíce zastoupené mastné kyseliny patřily k. palmitová, k. sapienová, k. *cis*-8-oktadecenová a k. stearová.

Rozšíření výzkumu o větší skupinu dobrovolníků a další faktory by mělo přispět k podrobnějšímu pochopení složení a biosyntézy povrchových lipidů pokožky. A tím přinést důležité informace pro vývoj kosmetických přípravků.

Komplexní koloidní systémy pro přípravu funkčních potravin

Bc. Veronika Chourová

M2

doc. Ing. Iveta Klojdová, Ph.D.

Komplexní koloidní systémy představují perspektivní přístup ve vývoji funkčních potravin s cíleně upravenými technofunkčními a nutričními vlastnostmi. Tato práce se zaměřuje na vývoj a charakterizaci oleogelů, které mohou sloužit jako výchozí systémy pro přípravu bigelů. Oleogely byly připraveny metodou emulzního templátu z emulzí obsahujících řepkový olej a xanthanovou nebo guarovou gumu, případně jejich kombinaci. Sledován byl vliv složení vodné fáze, zejména použití 10% a 20% roztoku podmáslí, a způsobu odstranění vody sušením v sušárně nebo pomocí lyofilizace. Některé experimenty zahrnovaly také přídavek sušené mrkve.

Výchozí emulze byly charakterizovány z hlediska fyzikální stability a distribuce velikosti částic. U připravených oleogelů byla hodnocena vaznost oleje a u vybraných vzorků rovněž ukazatele oxidační stability. Emulze s podmáslím vykazovaly nízké hodnoty indexu nestability a použitý způsob sušení se projevil rozdíly ve vaznosti oleje.

Získané poznatky budou využity při optimalizaci přípravy oleogelů a následném vývoji bigelů s potenciálem pro přípravu potravin s upravenou texturou, například pro osoby s dysfagií. Za tímto účelem již byly úspěšně testovány vzorky s přídavkem sušené mrkve.

Stabilizace kosmetické emulze pomocí mastných kyselin z ricinového oleje

Bc. Dora Čermáková

M2

Ing. Markéta Berčíková, Ph.D.

Práce je zaměřena na studium a stabilizaci kosmetických emulzí typu V/O za použití volných mastných kyselin izolovaných z hydrogenovaného ricinového oleje. Pozornost je věnována vlivu emulgátorů různého typu (lecithiny, komerční emulgátory). Dále byl sledován vliv spojité olejové fáze, kde byl vybrán parafínový olej a slunečnicový olej. K hodnocení fyzikálních vlastností je využívána analytická centrifugace na přístroji LUMiSizer, měření velikosti částic na přístroji Mastersizer 3000 a optická mikroskopie. Cílem práce je optimalizace složení, úprava viskozity spojité olejové fáze a tím zvýšení stability emulze, a také efektivní redukce podílu komerčních emulgátorů při zachování vysoké stability systémů. Výsledky měření ukázaly, že zatímco zvolené komerční emulgátory umožnily přípravu stabilních emulzí, formulace s lecithiny vykazovaly separaci fází a dostatečné stability nedosáhly.

Integrace léčiva pro atopickou dermatitidu do různých fyzikálních systémů pro dermální aplikaci

Bc. Klára Chvátalová

M2

doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

Vývoj přípravků na bázi koloidních systémů s obsahem bioaktivních látek

Bc. Karolína Jandová

M2

doc. Ing. Iveta Klojdová, Ph.D.

Analýza lecithinů

Bc. Andrea Janoušková

M2

Ing. Tereza Honzíková, Ph.D.

Práce se zaměřuje na získávání a charakterizaci fosfolipidů z olejnatých semen, konkrétně řepky a sóji, a na analýzu komerčně dostupných lecithinů. V rámci experimentální části byly z olejnatých semen laboratorně připraveny oleje, které byly následně podrobeny procesu degummingu za účelem oddělení fosfolipidové frakce. Účinnost tohoto procesu byla hodnocena porovnáním obsahu fosforu v olejové frakci před a po zpracování, přičemž jeho pokles poukazoval na vyšší účinnost odstranění fosfolipidů. U získaných lecitinových kalů byl stanoven obsah nezmýdelnitelného podílu, tvořeného minoritními složkami. Další část práce se věnuje charakterizaci komerčních sójových, řepkových a slunečnicových lecithinů, včetně jejich technologicky modifikovaných forem. Složení lecithinů bylo hodnoceno pomocí tenkovrstvé chromatografie. Dále bylo stanoveno číslo kyselosti a peroxidové číslo jako ukazatele obsahu volných mastných kyselin a oxidačního stavu.

Ústav analýzy potravin a výživy (323)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Martina Vlčková

SEZNAM SEKCÍ

1. Sekce A – Bezpečnost potravin
2. Sekce B – Kvalita potravin a výživa

SPONZOŘI


SIAD


Altium


Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™


praqolab


CHROMSERVIS


avantor™


NICOLET CZ
MOLECULAR SPECTROSCOPY


SHIMADZU
Excellence in Science


AMEDIS
distributor of
SCIEX


helago®


MERCK


ALS

Sekce A – Bezpečnost potravin

MÍSTO: B33

KOMISE

prof. Ing. Jana Pulkrabová, Ph.D. – předsedkyně

doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

doc. Ing. Michal Stupák, Ph.D.

Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.

PROGRAM

9:00 Bc. Lucie Horejšová

9:20 Bc. Lukáš Janda

9:40 Bc. Veronika Kadečková

10:00 Adriana Ožvoldíková

10:20 Bc. Matěj Pitrák

10:40 Bc. Zuzana Rothová

11:00 Bc. Magdalena Vávrová

11:20 Bc. Jana Zikmundová

11:40 Bc. Michaela Žurovcová

Med jako indikátor environmentální kontaminace per- a polyfluoralkylovaných sloučenin

Bc. Lucie Horejšová

M2

doc. Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.

Per- a polyfluoralkylované látky (PFAS) jsou syntetické sloučeniny vyznačující se vysokou stabilitou a perzistencí v životním prostředí. Hlavní cesta expozice člověka těmto látkám je dietární a je spojována s řadou potenciálních nepříznivých účinků na lidské zdraví. Přítomnost PFAS v medu může sloužit jako jeden z ukazatelů lokální kontaminace životního prostředí (např. průmyslová výroba nebo použití hasících pěn), jelikož včela medonosná získává nektar, pyl a další zdroje potravy z oblasti v okruhu přibližně tří kilometrů od úlu.

V rámci této práce byla vyvinuta a validována analytická metoda pro stanovení 43 PFAS v medu. Příprava vzorků byla založena na modifikované metodě QuEChERS s následným přečištěním organického extraktu pomocí disperzní extrakce na pevnou fázi s využitím směsi sorbentů C18, PSA a Z-Sep+. Instrumentální analýza byla provedena ultraúčinnou kapalinovou chromatografií ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC–MS/MS). V 99 analyzovaných vzorcích medu různého botanického i geografického původu byly detekovány pouze tři látky: kyselina perfluorbutanová (PFBA), přítomna v 82 vzorcích s mediánem koncentrace 0,05 ng/g, dále kyselina perfluorpentanová (PFPeA) v 55 vzorcích a kyselina perfluoroktanová (PFOA) pouze v jediném vzorku. Získané výsledky představují první systematická data o výskytu PFAS v českém medu a potvrzují jeho bezpečnost, zároveň však poukazují na nutnost dalšího monitoringu.

Využití studeného atmosférického plazmatu ke snížení kontaminace ostropestřce mariánského mykotoxiny

Lukáš Janda

M1

prof. Ing. Milena Stránská, Ph.D.

Ostropestřec mariánský (*Silybum marianum*) je léčivá rostlina známá svými hepatoprotektivními vlastnostmi, za které vděčí skupině látek souhrnně označovaných jako silymarin. Tyto látky významně napomáhají regeneraci jaterní tkáně, a proto ostropestřec často nachází uplatnění při výrobě léčiv či doplňků stravy. Jeho nažky však mohou být kontaminovány mikroskopickými vláknitými houbami produkujícími sekundární metabolity, mykotoxiny, které mohou představovat zdravotní riziko pro konzumenty. Studené atmosférické plazma (CAP) představuje perspektivní netermální metodu dekontaminace založenou na reaktivních forem kyslíku a dusíku, UV záření a nabitých částic, které mohou vést k inaktivaci mikroorganismů i chemickým přeměnám nízkomolekulárních látek, včetně mykotoxinů. Cílem této studie bylo stanovit 57 mykotoxinů v devíti vzorcích nažek ostropestřce mariánského dostupných na trhu pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-HRMS/MS) a následně ověřit přímý účinek CAP na mykotoxiny. Ve vzorcích bylo stanoveno celkem 17 mykotoxinů, přičemž nejvyšší koncentrace byly zaznamenány u kyseliny tenuazonové, enniatinů a toxinů HT-2 a T-2. Po aplikaci CAP byl u většiny sledovaných mykotoxinů pozorován pokles jejich obsahu o jednotky až vyšší desítky %.

Stanovení kyseliny trifluoroctové v potravinách rostlinného původu

Bc. Veronika Kadečková

M2

doc. Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.

Kyselina trifluoroctová (TFA) představuje emergentní kontaminant patřící do skupiny ultrakrátkých per- a polyfluoralkylovaných sloučenin (USC-PFAS). Jedná se o vysoce perzistentní a všudypřítomnou látku s vysokou mobilitou ve vodním prostředí. Do životního prostředí se USC-PFAS dostávají nejenom jako degradační produkty fluorovaných pesticidů (PFAS pesticidů obsahujících CF_2 nebo CF_3 skupinu), ale vznikají také rozpadem jiných fluorovaných látek (chladiva do ledniček a klimatizací či termolýzou fluoropolymerů). Přestože jsou USC-PFAS intenzivně zkoumány ve složkách životního prostředí, informace o jejich výskytu v potravinách jsou stále nedostatečné. Tato práce se zaměřuje na vývoj a optimalizaci analytické metody pro stanovení TFA v potravinách rostlinného původu. TFA byla ze vzorků extrahována směsí vody a okyseleného methanolu (1% k. mravenčí) v poměru 1:1 (QuPPe metoda) a získané extrakty byly analyzovány pomocí LC-MS/MS. Pro validaci byly vybrány druhy ovoce a zeleniny s vyšším obsahem vody, protože se předpokládá, že voda je jedním z hlavních zdrojů kontaminace. Metoda byla validována na 2 koncentračních hladinách (0,1 mg/kg a 1 mg/kg) v 5 různých matricích (mrkev, okurka, salát, jablko a pomeranč) dle požadavků dokumentu DG SANTE č. 11312/2021v2026. Vyvinutá metoda bude sloužit k získání většího přehledu o stupni kontaminace potravin TFA.

Konopná kosmetika jako potenciální zdroj expozice THC

Adriana Ožvoldíková

B3

Ing. Beneš, PhD.

Tato práce se zabývá hodnocením konopných kosmetických přípravků. Zaměřuje se na kvantifikaci látek, zejména látek ze skupiny tetrahydrokanabinolů (THC), které by zde podle Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích, které zakazuje používání jakýchkoliv psychotropních látek, nemělo být obsaženo. Trh s konopnou kosmetikou a topickými přípravky s obsahem kanabinoidů prochází v posledních letech výrazným růstem. Zákazníci tyto produkty vyhledávají pro deklarované protizánětlivé, antioxidantní a sebostatické účinky, primárně spojené s kanabidiolem (CBD) a mastnými kyselinami konopného oleje. Stále častěji se využívají i širokospektrální extrakty, které nesou vyšší riziko přítomnosti nežádoucích látek, jako je THC. Vzhledem k přísné legislativě v EU i ČR a potenciálním toxikologickým či forenzním rizikům (např. falešně pozitivní testy na návykové látky) je nutné exaktně zhodnotit skutečnou míru kontaminace/přítomnosti THC v běžně dostupných kosmetických matricích.

V rámci experimentální práce bylo analyzováno 11 komerčně dostupných konopných kosmetických přípravků na přítomnost 18 fytokanabinoidů (rostlinných kanabinoidů). Pro separaci a detekci fytokanabinoidů byla použita ultra-účinná kapalinová chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPL-MS/MS) na přístroji Agilent 6495 triple Quad LC/MS.

Cílem práce bylo posoudit reálný výskyt THC v komerčně dostupné kosmetice, porovnat s deklarací a zhodnotit potenciální forenzní a toxikologická rizika plynoucí z topické aplikace.

Detekce ultrakrátkých PFAS ve vodě: vývoj a optimalizace analytické metody

Matěj Pitrák

M1

doc. Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.

Per- a polyfluoralkylované látky (PFAS) patří mezi významné perzistentní kontaminanty životního prostředí. V poslední době se zvýšená pozornost zaměřuje také na ultrakrátké PFAS (US-PFAS), které jsou kvůli své polaritě vysoce mobilní ve vodním prostředí a jejich odstranění z vod představuje technologický problém.

V rámci této práce byly optimalizovány podmínky instrumentálního stanovení 8 látek ze skupiny US-PFAS, včetně trifluoroctové kyseliny (TFA), pomocí ultraúčinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS/MS). Optimalizace byla zaměřena na podmínky MS/MS detekce a porovnání dvou ionizačních technik, elektrospreje a UniSprey™. Chromatografická separace byla realizována na koloně Altura Poroshell 120 PFAS (Agilent), určené pro separaci PFAS látek s délkou uhlíkového řetězce v rozmezí C1-C18. Současně byla vyvíjena a optimalizována metoda přípravy vzorků vod využívající extrakci na tuhou fázi (SPE). Testovány byly SPE kolonky různých výrobců i vliv pH vzorku na výtěžnost postupu. Zvláštní pozornost byla věnována procesním slepým pokusům, které jsou důležité zejména při stanovení TFA. Pro metodu SPE s okyselením vzorku na hladině 10 000 ng/l (pro TFA 10× vyšší) se výtěžnost analytů pohybovala mezi 59-128 % a opakovatelnost do 7 %. LOQ bylo stanoveno pro MFA a TFA 50 ng/l a pro DFA, PFBA, PFMS, PFEtS, PFPrS 2,5 ng/l.

Vliv střevní mikrobioty na transformaci modifikovaných mykotoxinů

Bc. Zuzana Rothová

M3

prof. Ing. Milena Stránská, Ph.D.

Mykotoxiny jsou toxické sekundární metabolity mikroskopických vláknitých hub, které představují významné riziko pro bezpečnost potravin a krmiv. Vedle nativních forem se v potravinách mohou vyskytovat také modifikované mykotoxiny, vznikající například v důsledku metabolismu rostlin. Tyto modifikace mohou ovlivňovat jejich toxicitu, biologickou dostupnost i možnosti analytického stanovení.

Významnou roli při biotransformaci modifikovaných mykotoxinů hraje střevní mikrobiota, která může hydrolýzou glykosidických vazeb uvolňovat původní toxické formy. Rozsah a rychlost těchto přeměn může záviset na složení střevní mikrobioty, které je ovlivňováno řadou faktorů, včetně věku jedince.

Cílem práce je zhodnotit vliv lidské střevní mikrobioty na biotransformaci vybraných glukosidů T-2 a HT-2 toxinů v čase se zaměřením na rozdíly mezi jednotlivými věkovými skupinami. Celkem 22 vzorků fekální mikrobioty pocházejících od batolat, dětí a dospělých bylo kultivováno s glukosidy T-2 a HT-2 toxinu po dobu 1 až 72 hodin a následně analyzováno pomocí UHPLC-HRMS/MS.

Získané výsledky poskytnou podklady k lepšímu pochopení úlohy střevní mikrobioty v metabolismu modifikovaných mykotoxinů a k hodnocení souvisejících zdravotních rizik u různých věkových skupin.

Vliv studeného atmosférického plazmatu na složení silymarinového komplexu v plodech ostropestřce mariánského

Bc. Magdalena Vávrová

M1

prof. Ing. Milena Stránská, Ph.D.

Ostropestřec mariánský (*Silybum marianum*) je zdrojem komplexu flavonolignanů označovaných jako silymarin, které vykazují antioxidační a hepatoprotektivní účinky. Jeho plody se využívají k výrobě doplňků stravy a léčiv. Kvalita a bezpečnost plodů mohou být ovlivněny kontaminací mikroorganismy a jejich sekundárními metabolity, zejména mykotoxiny. Tradiční metody dekontaminace mohou degradovat bioaktivní látky. Alternativou je aplikace studeného plazmatu, které umožňuje inaktivaci mikroorganismů bez významného zahřívání materiálu, může však ovlivňovat stabilitu těchto látek. Cílem práce bylo posoudit vliv studeného plazmatu na profil silymarinových flavonolignanů v plodech ostropestřce. Nejprve bylo ve vzorcích z českého trhu pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-HRMS) stanoveno 11 složek silymarinu a byl vybrán vhodný materiál pro další experimenty. Následně bylo studené plazma aplikováno na analytické standardy a plody ostropestřce. U standardů došlo k poklesu koncentrace většiny sledovaných flavonolignanů, nejvýrazněji u 2,3-dehydrosilybinu, zatímco v plodech nebyly změny koncentrací jednotlivých složek statisticky významné. Výsledky naznačují, že rostlinná matrice může částečně chránit složky silymarinu před přímým působením reaktivních částic vznikajících při ošetření.

Analýza biomarkerů expozice reziduím pesticidů v moči

Bc. Jana Zikmundová

M1

Ing. Kamila Stehnová, PhD.

Pesticidy jsou chemické látky využívané k ochraně rostlin před škůdci a chorobami. Expozice člověka těmto látkám může probíhat zejména prostřednictvím potravy, pracovního prostředí a životního prostředí. Cílem této práce je zhodnotit míru expozice běžné populace vybraným pesticidům na základě týdenního biomonitoringu koncentrací jejich metabolitů v moči. V rámci studie bylo analyzováno celkem 36 vzorků moči odebraných od 9 dobrovolníků ve čtyřech odběrových dnech (1., 3., 5. a 7. den). Sledováno bylo 10 metabolitů ze tří skupin pesticidů: pyrethroidů (3-PBA, 4-F-3-PBA, cis-DCCA, trans-DCCA, cis-DBCA a ClF3CA), neonikotinoidů (IMI, ACE a N-desmethyl-ACE) a organofosfátů (TCPy). Pro stanovení analytů byla využita manuální extrakce na pevné fázi (SPE) v kombinaci s ultravysokoúčinnou kapalinovou chromatografií ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS/MS).

Validace metody proběhla na dvou koncentračních hladinách (1 a 10 ng/ml). Požadovaná validační kritéria byla splněna u většiny sledovaných analytů, přičemž ClF3CA jako jediný tato kritéria nesplnil. U většiny analytů se výtěžnosti pohybovaly v rozmezí 82–118 % a relativní směrodatná odchylka v rozmezí 2,1–18,0 %. U TCPy a N-desmethyl-ACE byla validační kritéria splněna pouze na vyšší koncentrační hladině, při výtěžnosti 108 %, respektive 111 %.

Nejvyšší četnost nálezů byla zaznamenána u metabolitů 3-PBA, N-desmethyl-ACE, TCPy a trans-DCCA, které byly detekovány ve většině analyzovaných vzorcích. Nejvyšší koncentrace byla zjištěna u N-desmethyl-ACE (2,58 ng/ml), následovaná 3-PBA (1,72 ng/ml) a TCPy (1,24 ng/ml). Při porovnání výsledků mezi jednotlivými dobrovolníky ani mezi koncentracemi sledovaných metabolitů nebyly zjištěny jednoznačné vzájemné souvislosti. Práce přináší poznatky o výskytu vybraných pesticidních metabolitů v moči běžné populace a poskytuje data přispívající k lepšímu porozumění úrovni expozice pesticidům v podmínkách České republiky.

Pyrolyzní plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií v analýze organického fluoru v obalových materiálech

Bc. Michaela Žurovcová

M2

Ing. Jakub Tomáško, Ph.D.

Per- a poly- fluoralkylované sloučeniny (PFAS) jsou široká skupina látek odolných vůči rozkladu v životním prostředí. Pro svou schopnost odpuzovat vodu i lipidy se přidávají od 50. let 20. století do mnoha produktů, včetně materiálů přicházejících do styku s potravinami. Jedná se však o látky schopné vázat se na proteiny, navíc jsou některé i hodnocené jako možné karcinogeny. Dle nového nařízení Evropského parlamentu a Rady (EU) 2025/40 je od 12. srpna 2026 limitován obsah těchto látek. Pokud obsah celkového fluoru přesáhne 50 mg/kg vzorku, musí být doloženo, zda se jedná o PFAS či jiné fluorované sloučeniny. Dominantní metoda pro cílovou analýzu PFAS, kapalinová chromatografie s hmotnostní spektrometrií, však nedokáže detekovat všechny jejich formy, což může způsobit podhodnocení celkového obsahu.

Tato práce se zaměřuje na použití pyrolýzy ve spojení s plynovou chromatografií a hmotnostní spektrometrií (Py-GC-MS) pro charakterizaci forem fluorovaných sloučenin v 21 vzorcích s vyšším obsahem celkového fluoru. Pro analýzu prekurzorů PFAS, fluorotelomerních alkoholů (FTOH), byla využita v módu termální desorpce (TD/Py-GC-MS). Screening fragmentů PFAS byl potom proveden pomocí Py-GC-MS v módu pyrolýzy.

Pomocí TD/Py-GC-MS byly ve vzorcích stanovovány 4:2, 6:2, 8:2 a 10:2 FTOH. Vyjma 6:2 FTOH byly ve všech vzorcích odezvy pod limitem kvantifikace (1 mg/kg). Pro 6:2 FTOH byly koncentrace v rozmezí od <1 do 36,14 mg/kg s průměrnou hodnotou 7,95 mg/kg, která tvoří přibližně 1,3 % celkového fluoru naměřeného v pilotní studii.

Sekce B – Kvalita potravin a výživa

MÍSTO:

KOMISE

prof. Ing. Milena Stránská, Ph.D. – *předsedkyně*

prof. Dr. Ing. Jan Poustka

doc. Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.

Ing. Vít Kosek, Ph.D.

.

PROGRAM

9:00 Bc. Jaroslav Borges

9:20 Patrik Brudovský

9:40 Bc. Hana Jarešová

10:00 Bc. Petra Klimplová

10:20 Bc. Alexandra Oplíštilová

10:40 Bc. Jana Rajchertová

11:00 Sára Stupárková

11:20 Bc. Štěpánka Syrovátková

11:40 Bc. Emílie Šůsová

Charakterizace fenolických sloučenin v rostlinných bílkovinných koncentrátech a produktech s jejich přídavkem

Bc. Jaroslav Borges

M1

prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Předmětem projektu byla analýza fenolických látek v sójových a slunečnicových proteinových koncentrátech. Fenolické látky představují významnou skupinu sekundárních metabolitů rostlin, které mohou mít negativní vliv na senzorické vlastnosti rostlinných proteinových výrobků. Významné polyfenoly sójových proteinů daidzein a genistein byly spojeny s hořkou chutí těchto proteinů. Chlorogenová kyselina, která je dominantní fenolickou látkou slunečnicových proteinů, způsobuje hořkou a svíravou chuť. Jejich kvantitativní stanovení může být komplikováno interakcemi s proteiny, které ovlivňují účinnost extrakce. Projekt navazuje na výsledky bakalářské práce, ve které byla optimalizována metoda extrakce těchto látek pro navážku vzorku 1 g. Z důvodu přesycení detektoru při vyšší navážce, které umožňovalo kvantifikaci pouze 10 000 × zředěných vzorků, byl v rámci projektu optimalizován extrakční postup s nižší navážkou 100 mg. Přístupem návrhu experimentu bylo určeno optimální složení rozpouštědla 70 % methanolu ve vodném roztoku. Účinnost extrakční metody byla ověřena kapalinovou chromatografií s hmotnostně spektrometrickou detekcí. Výsledkem projektu je návrh vhodného rozpouštědla, pro které bude validována analytická metoda.

Využití necílové analýzy k autentifikaci bylinných čajů na bázi heřmánku

Patrik Brudovský

B3

prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Heřmánek pravý (*Matricaria chamomilla*) a heřmánek římský *(Chamaemelum nobile*) patří mezi důležité léčivé rostliny využívané pro své protizánětlivé, antibakteriální a zklidňující účinky. V praxi však může dojít k jejich záměnám či falšování, buď z důvodu záměrné příměsi levnějších surovin, nebo, více pravděpodobněji, nezáměrnou kontaminací plevely během automatizované sklizně. Cílem této práce je pomocí necílové metabolomické analýzy nalézt látky (markery) specifické pro uvedené druhy heřmánků, stejně jako pro potenciální adulteranty. Rostlinné matrice byly extrahovány směsí methanol:voda (4:1, v/v). Získané extrakty byly analyzovány pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie spojené s tandemovou vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (UHPLC-HRMS/MS). Získaná necílová data byla vyhodnocena v programu MZmine. Dále na ně byla aplikována statistická metoda analýzy hlavních komponent (PCA), která umožnila separaci vzorků heřmánku pravého, heřmánku římského a testovaných adulterantů. Následná anotace relevantních fragmentačních spekter vedla k identifikaci klíčových specifických metabolitů, které budou dále validovány.

Metabolomická analýza aterosklerózou změněných tkání

Bc. Hana Jarešová

M1

Ing. Vít Kosek, Ph.D.

Vznik a vývoj aterosklerotických plátů je komplexní proces, jehož vyústění v podobě prasknutí plátu v karotidě může způsobit cévní mozkovou příhodu. To, zda je plát stabilní, nebo naopak náchylný k ruptuře, závisí na jeho chemickém složení, které nelze spolehlivě určit pouze na základě vizuálního hodnocení konvenčními technikami, především pomocí ultrazvuku. Cílem práce bylo vyvinout, optimalizovat a následně stanovit pracovní charakteristiky metody pro semikvantifikaci lipidů v aterosklerotických plátech pomocí superkritické fluidní chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (SFC-HRMS). Do přípravy vzorků byla zařazena lyofilizace, byl optimalizován objem nástřiku a koncentrace 17 lipidových vnitřních standardů pokrývajících 15 lipidových tříd. Metoda byla využita k analýze rozsáhlého souboru 432 řezů plátů z karotid od 108 pacientů z Ústřední vojenské nemocnice v Praze. Získaná data ukázala, že stenotické části plátu vykazují nárůst triacylglycerolů (TAG) a naopak úbytek fosfatidylethanolaminů (PE). Analýza zároveň odhalila rozpor s klinickým vizuálním hodnocením, neboť vzorky klasifikované jako středně stenotické vykazovaly lipidomický profil odpovídající maximálnímu stupni stenózy. Práce poukazuje na to, že chemická analýza lipidomu může lépe popsat složení plátu a pomoci při identifikaci rizika ruptury.

Metabolomická analýza konopí při infekci a ošetření

Bc. Petra Klimplová

M2

doc. Ing. Michal Stupák, Ph.D.

Konopí seté (*Cannabis sativa L.*) se vyznačuje komplexním metabolickým profilem, který se může měnit působením stresových faktorů, včetně infekce *Botrytis cinerea*. Cílem práce bylo charakterizovat změny metabolomu konopí v závislosti na infekci a ošetření kombinací nanoemulze fenyklového oleje a kvasinkového lyzátu. Vzorky byly rozděleny do čtyř skupin: kontrolní, infikované, ošetřené a infikované a současně ošetřené. Metabolický profil byl analyzován pomocí LC-HRMS v pozitivním a negativním ionizačním módu a GC-HRMS. Data byla zpracována pomocí univariačních a multivariačních statistických metod. Nejprve byl prokázán vliv polohy vzorku na rostlině, proto byly apikální a postranní vzorky dále hodnoceny samostatně. Následně byly identifikovány potenciální metabolické markery související s infekcí a ošetřením. GC-HRMS poskytla převážně markery s molekulovou hmotností pod 200 Da, zatímco LC-HRMS zejména markery s vyšší molekulovou hmotností. Výsledky potvrzují komplementaritu obou technik a přínos jejich kombinace pro charakterizaci metabolické odpovědi konopí na infekci a ošetření.

Vitamin D: sezónní změny koncentrace 25-hydroxyvitaminu D_3 v krevním séru ve vztahu ke kožnímu fototypu

Bc. Alexandra Oplíštilová

M2

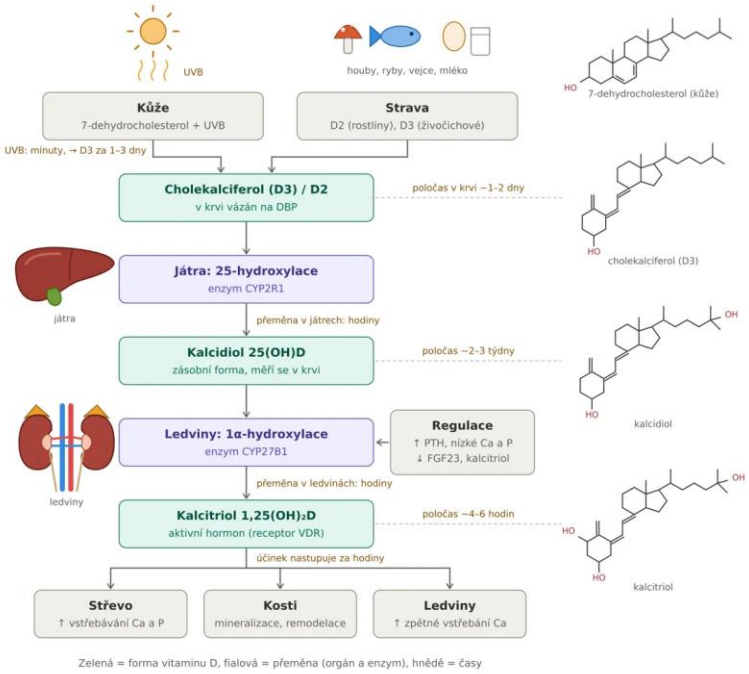
Ing. Lucie Drábová, Ph.D.

Vitamin D hraje důležitou roli v regulaci metabolismu vápníku a fosfátů, vývoji a udržování kostní tkáně, svalových funkcích a fungování imunitního systému. Hladina koncentrace je závislá na expozici sluncem, roční době a kožním fototypu.

Práce byla hlavně zaměřena na metabolit 25-hydroxyvitamin D_3 ($25(OH)D_3$) a na jeho změny v hladině séra v průběhu ročního období (podzim 2023 – léto 2024) a posouzení jejich vztahu ke kožnímu fototypu odebraných osob.

Stanovení hladiny metabolitu vitaminu D_3 v krevním séru bylo měřeno pomocí kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (LC-MS/MS).

Byl pozorován meziroční pokles a nárůst metabolitu ($25(OH)D_3$), kdy nejvyšší hladina mediánu byla změřena v říjnu a nejnižší v únoru. Při porovnání jednotlivých fototypů byly zaznamenány patrné rozdíly v koncentracích ($25(OH)D_3$), které se měnily během roku. Mediánové hodnoty mezi všemi fototypy v říjnu si byly sobě rovné, ale v únoru a červnu byly u fototypu IV pozorovány nižší mediánové koncentrace než u ostatních fototypů.



Stanovení karotenoidů a tokoferolů v potravinách rostlinného a živočišného původu

Bc. Jana Rajchertová

M2

Ing. Lucie Drábová, Ph.D.

Karotenoidy, z nichž některé (např. β-karoten) působí jako provitaminy A, a tokoferoly neboli vitamin E, jsou lipofilní látky s antioxidačními vlastnostmi. Práce se zaměřuje na validaci analytické metody pro stanovení těchto látek v potravinách rostlinného a živočišného původu i na optimalizaci přípravy vzorků s alkalickou hydrolýzou i bez ní, s následnou analýzou pomocí HPLC-DAD/FLD. První část se zabývá analýzou karotenoidních potravinářských barviv ve vybraných potravinách (ochucených nápojích, sýrech a zmrzlinách) a porovnáním jejich obsahu s legislativními požadavky. Druhá část sleduje vliv zpracování (mrazení, lyofilizace, sušení) a skladování (ve tmě, na světle a v mrazničce) na stabilitu přirozených karotenoidů a tokoferolů v rostlinných surovinách, konkrétně v mangu a mrkvi. Poslední část se věnuje stanovení karotenoidů a vitaminu E ve vaječných žloutcích a hodnocení vlivu probiotik v krmivu nosnic na jejich obsah.

Určení druhu skořice na základě profilu vybraných těkavých sloučenin

Sára Stupárková

B3

prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Sušená kůra skořicovníku je žádaná pro své využití při přípravě řady pokrmů, kosmetiky a v tradiční medicíně. Vedle vysoce ceněné skořice cejlonské (*Cinnamomum verum*) jsou na evropském trhu dostupné také levnější druhy, jako skořice čínská (*Cinnamomum cassia*), skořice indonéská (*Cinnamomum burmannii*) a další. Druhová příslušnost skořice v mnoha případech není na obalech uvedena nebo je nesprávná. Uvedené druhy se mimo charakteru aroma zásadně liší obsahem kumarinu, sekundárního metabolitu, který při dlouhodobém překročení TDI 0,1 mg/kg tělesné váhy působí hepatotoxicky. Jelikož je tato látka v čínské a indonéské skořici obsažena v řádově vyšším množství, může představovat zdravotní riziko. Cílem práce bylo tedy vyšetření skořice dostupné na českém trhu za účelem odhalení falšování záměnou jednotlivých druhů. 79 vzorků skořice z různých zdrojů bylo dezintegrováno a frakcionováno podle velikosti částic. Jednotlivé vzorky byly opakovaně extrahovány ethyl-acetátem, spojené extrakty ředěny hexanem a následně analyzovány pomocí techniky GC-MS/MS. Kromě kumarinu byl sledován obsah dalších 8 těkavých metabolitů, které jsou ve skořici obsaženy a byly identifikovány jako potenciální markery druhové příslušnosti. Autenticita vzorků skořice z tržní sítě byla hodnocena na základě srovnání profilu jejich charakteristických složek s referentními vzorky.

Kritické zhodnocení vybraných kvalitativních parametrů rajčat pěstovaných s použitím nového organického hnojiva

Bc. Štěpánka Syrovátková

M2

doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

S rostoucí popularitou jedlého hmyzu vzniká také odpad spojený s jeho produkcí. Trus, nestrávený substrát a exoskelety zbylé po chovu, souhrnně nazývané frass, se používají jako nové organické hnojivo. Frass má vhodný poměr živin a vedle podpory růstu také zvyšuje obranyschopnost rostliny díky obsahu chitinu. Představuje tak možnost nového udržitelného organického hnojiva šetrného k životním prostředí. Pro pilotní studii byla využita rajčata dodána ČZU, zahrnující kontrolní vzorek a sedm vzorků hnojených různými druhy frassu. Pro hodnocení vlivu hnojení na zastoupení biologicky aktivních sekundárních metabolitů, včetně fenolických látek, byla využita metoda metabolomického fingerprintingu technikou UHPLC-MS/MS. Byl prokázán odlišný metabolomický profil mezi kontrolními a frassem hnojenými vzorky, i mezi vzorky hnojenými různými druhy frassu. Jako nejvýznamnější markery byly identifikovány především fenolové kyseliny. Dále byl sledován obsah i zastoupení karotenoidů a tokoferolů pomocí metody HPLC-DAD/FLD. Mezi sledovanými karotenoidy byl zastoupen zejména lykopen, který je spojován s významným antikarcinogenním potenciálem. Na základě poznatků pilotní studie probíhá navazující rozsáhlá studie zkoumající vliv hnojení různými dávkami frassu, konvenčního hnojení a reakci rostlin na napadení hmyzem.

Komplexní lipidomická analýza plasmy v kontextu atherosklerotických onemocnění

Bc. Emílie Šůsová

M2

Ing. Vít Kosek, Ph.D

Chronický subklinický zánět představuje jeden z klíčových faktorů podílejících se na vzniku a progresi atherosklerózy, která může následně vést k rozvoji závažných kardiovaskulárních komplikací, jako jsou infarkt myokardu nebo cévní mozková příhoda. Analyzovány byly vzorky krevní plasmy od 3 skupin pacientů dodané Ústřední vojenskou nemocnicí v Praze. Jednou skupinou byli pacienti po mozkové mrtvici, další po infarktu myokardu a poslední skupina sloužila jako skupina kontrolní zdravých pacientů. Kontrolní skupina sloužila pro posouzení rozdílu lipidických profilů zdravých a nemocných pacientů. Cílem analýzy byla identifikace změn v lipidomu, které souvisejí s probíhajícím onemocněním. Díky tomuto lze vylepšit popis mechanismů vzniku koronárních onemocnění. Změny byly sledovány pomocí lipidomické analýzy. Ke vzorkům byly přidány vnitřní standardy pro následnou kvantifikaci a následně byly vzorky extrahovány podle Matyashe s použitím směsi rozpouštědel MTBE:MeOH. Lipidy byly analyzovány pomocí dvou chromatografických metod, superkritické fluidní chromatografie (SFC) a kapalinové chromatografie na reverzní fázi (RPLC). Tyto dvě metody byly mezi sebou porovnány pro jejich rozdílnost v mechanismu separace. Pro obě metody byl využit hmotnostní spektrometr s vysokým rozlišením (HRMS). Kvantifikace lipidů byla možná pomocí vnitřních standardů obsahující deuterované mastné kyseliny a také mastné kyseliny s lichým počtem. Po vyhodnocení se podařilo semikvantifikovat 14 lipidických tříd, mezi kterými byly pro odlišení skupin nejvýznamnější zejména ceramidy, triacylglyceroly, lysofosfatidylcholiny, lysofosfatidylethanolaminy. Data byla zpracována kombinací jednorozměrných i vícerozměrných statistických analýz.

Ústav konzervace potravin (324)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

SEZNAM SEKCÍ

1. Ústav konzervace potravin

SPONZOŘI - ÚSTAV KONZERVACE POTRAVIN

MARS WRIGLEY

Konzervace potravin

MÍSTO: B22

KOMISE

doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D. (předsedkyně)

Ing. Iveta Šístková, Ph.D.

Ing. Filip Beňo, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **Zahájení**

09:05 **BSc. Sezin Baş** (M2, Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.)
Development of polymer-based particles with incorporated active substances and their application in food packaging

09:20 **Bc. Adéla Hnízdilová** (M2, Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.)
Analýza fermentovaných nápojů typu kombucha

09:35 **Bc. Pavel Pecho** (M1, Ing. Iveta Šístková, Ph.D.)
Těkavé a senzoricky aktivní látky jako indikátory kvality a stability potravin rostlinného původu bohatých na tuky

09:50 **BSc Mithun Puthenveettil Satheesh** (M2, Ing. Václav Pohůnek, PhD.)
Ultrasound Treatment of Meat

10:05 **Bc. Barbora Tichá** (M2, Ing. Filip Beňo, Ph.D.)
Vývoj hybridních masných výrobků

10:20 **Bc. Nicolas Tošnar** (M2, doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.)
Hodnocení a modelování tepelného opracování masných a konzervárenských výrobků

10:55 **Vyhlášení výsledků**

Development of polymer-based particles with incorporated active substances and their application in food packaging

B.Sc. Sezin Baş

Study year: M2

Supervisor: Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

Agro-industrial side-streams, including rapeseed meal and hazelnut shells, represent sustainable biomass feedstocks for the extraction of bioactive biopolymers. In this work, acid-catalysed organosolv extraction was employed to isolate functional lignin network. FTIR spectroscopy revealed characteristic syringyl/guaiacyl (S/G) lignin bands, alongside co-extracted protein interference. Alkaline deproteinisation was applied to obtain fractions with reduced protein, facilitating spectral interpretation and demonstrating high structural homology with reference beech lignin. In parallel, hazelnut shells were pretreated via extraction with toluene for dewaxing and defatting prior to organosolv extraction. Ongoing comparative FTIR characterisation aims to evaluate the impact of extraction sequence and feedstock origin on isolated lignin yields, purity, and functional group retention. This approach highlights the potential of lignin for the development of polymer-based particles with incorporated active substances, offering antioxidant and UV-shielding functions for active food packaging applications through direct incorporation of ground particles into the polymer matrix, nanoprecipitation or emulsification and coating.

Analýza fermentovaných nápojů typu kombucha

Bc. Adéla Hnízdilová

Ročník studia: M2

Školitel: Ing. Iveta Horsáková, Ph.D.

Kombucha je nápoj vyráběný fermentací slazeného čajového výluhu. Průběh fermentace zajišťují bakterie mléčného a octového kvašení a kvasinky. Kombucha je často konzumována kvůli přítomnosti těchto prospěšných mikroorganismů. Ne vždy se ale v lahvi nachází to, co obal deklaruje. U některých výrobků je problémem například vyšší koncentrace alkoholu, než je limit stanovený pro nealkoholické nápoje nebo nepřítomnost živých mikroorganismů.

Tato práce se zabývá analýzou kombuch na českém trhu z hlediska obsahu životaschopných mikroorganismů a organických sloučenin vzniklých fermentací a jejich významem pro kvalitu a bezpečnost výrobku. Deset vzorků kombuch od různých výrobců bylo nejdříve mikrobiologicky analyzováno pro stanovení celkových počtů mikroorganismů a také pro stanovení počtu kvasinek, plísní a bakteriálních spor. Dále byla ve vzorcích izotachoforeticky stanovena koncentrace kyselin mléčné a octové. Nakonec byla ve vzorcích stanovena koncentrace ethanolu pomocí plynové chromatografie s hmotnostní detekcí. Získaná data byla vyhodnocena a byl posouzen jejich význam ve vztahu ke složení a popisu výrobku uvedeným výrobcem.

Těkavé a senzoricky aktivní látky jako indikátory kvality a stability potravin rostlinného původu bohatých na tuky

Bc. Pavel Pecho

Ročník studia: M1

Školitel: Ing. Iveta Šístková, Ph.D.

Len setý (*Linum usitatissimum*) je významnou surovinou v lidské výživě díky vysokému obsahu nutričně hodnotných lipidů, vlákniny a dalších bioaktivních látek. Jeho využití je však limitováno přítomností kyanogenních glykosidů, které mohou při hydrolýze uvolňovat toxický kyanovodík (HCN). Tepelné ošetření vede ke snížení obsahu kyanogenních látek, zároveň ale probíhají procesy ovlivňující senzorické vlastnosti produktu. Mikrovlnný ohřev má na rozdíl od široce používaného konvenčního ohřevu několik výhod, mezi které patří rychlost, šetrnost k surovině a nižší spotřeba energie. Cílem práce bylo zhodnotit vliv různě dlouhého mikrovlnného ošetření rozemletých výlisků lnu setého na senzorické vlastnosti, obsah těkavých látek a míru oxidace lipidů. Vzorky byly vystaveny mikrovlnnému ošetření po dobu 0 (kontrolní vzorek), 3, 6 a 12 minut. K hodnocení kvality vzorků bylo provedeno senzorické hodnocení barvy, vůně a chuti prezentováno formou paprskového grafu, analýza obsahu těkavých látek metodou plynové chromatografie s hmotnostním spektrometrem (GC-MS) a stanovení peroxidového čísla (PV) extrahovaného zbytkového oleje jako ukazatele primární oxidace lipidů.

Ultrasound Treatment of Meat

BSc Mithun Puthenveettil Satheesh

Study year: M2

Supervisor: Ing. Václav Pohůnek, PhD.

Ultrasound is a non-thermal processing technology that can modify meat structure through acoustic cavitation. This study investigated the effects of ultrasound treatment on raw meat from which dried beef products were made by comparing ultrasound-treated and untreated samples. The analysis focused on moisture content, water activity and shear force, with colour parameters included where available. The aim was to evaluate how ultrasound treatment influences the quality characteristics of beef during drying. The results provide insight into the potential of ultrasound as a processing method for improving meat quality and supporting the development of more effective drying techniques.



treated



untreated

Vývoj hybridních masných výrobků

Bc. Barbora Tichá

Ročník studia: M2

Školitel: Ing. Filip Beňo, Ph.D.

Hybridní masné výrobky (HMV) představují dynamicky se rozvíjející kategorii potravin, pro kterou dosud není legislativně ukotvena jednotná definice. Jedná se o masné výrobky obsahující přídavek nemasové alternativní složky. Jejich vývoj reaguje na současné požadavky na udržitelnější a pestřejší potravinové systémy a na snahu o snížení podílu masa ve stravě. Tato práce se zaměřuje na využití rostlinných surovin a vedlejších produktů zemědělské a potravinářské výroby při přípravě hybridních fermentovaných masných výrobků (HFMV). Jedním z cílů práce je navrhnout receptury HFMV na modelovém příkladu tradičního trvanlivého fermentovaného masného výrobku loveckého salámu. Částečná substituce hovězího masa, které představuje ekonomicky nákladnou surovinu, alternativními složkami může přispět ke snížení výrobních nákladů a ke zlepšení nutričního profilu finálního produktu. Dalším cílem je optimalizovat poměr masné a alternativní složky tak, aby byly zachovány technologické a senzorické vlastnosti výrobku. V práci byl hodnocen vliv přídavku mrkvových slupek a sušené mrkve (7,5 a 15 %), sušené dýně (7,5 a 15 %) a sušené červené řepy (3,5 a 7,5 %). Hodnocena byla chemická stabilita výrobku prostřednictvím stanovení hodnot TBARS, peroxidového čísla a čísla kyselosti, dále mikrobiologická stabilita, úbytky hmotnosti během sušení, aktivita vody (aw), textura, barva a senzorické vlastnosti.

Hodnocení a modelování tepelného opracování masných a konzervárenských výrobků

Bc. Nicolas Tošnar

Ročník studia: M2

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

Práce se zabývá hodnocením vlivu intenzity tepelného opracování na kvalitu masných konzerv a možnostmi matematického modelování sterilačních procesů. Výzkum reaguje na změnu legislativních požadavků na sterilační účinek z 10 na 3 minuty. Experimentálně byly hodnoceny vzorky masa ve vlastní šťávě podrobené sterilačním režimům s cílovými hodnotami F = 3, 7 a 10 min. Sledovány byly oxidační změny lipidů a bílkovin, fyzikálně-chemické parametry, senzorické vlastnosti a mikrobiologická jakost. Výsledky prokázaly vyšší míru oxidace lipidů při intenzivnějším tepelném opracování, zatímco u oxidace bílkovin nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly. Vyšší intenzita sterilace současně vedla k příznivějšímu hodnocení vybraných senzorických vlastností. Při mikrobiologickém vyšetření nebyl zaznamenán růst sledovaných mikroorganismů. Navazující část výzkumu je zaměřena na matematické modelování teplotních průběhů v autoklávu s cílem predikce sterilačního účinku a návrhu vhodných sterilačních režimů. V současnosti probíhá příprava modelu na základě experimentálně získaných teplotních dat.

Ústav chemie přírodních látek (342)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Jakub Zýka, Ph.D.

SEZNAM SEKCÍ

1. Ústav chemie přírodních látek – A

2. Ústav chemie přírodních látek – B

Ústav chemie přírodních látek – A

MÍSTO: RESPIRIUM

KOMISE

doc. Dr. Ing. Ivan Raich

Ing. Petr Štěpánek, Ph.D., MBA

Ing. Ondřej Šimák, Ph.D.

PROGRAM

9:00 **zahájení**

Bc. Vojtěch Böhm (Mgr. 2. ročník)
Talopyranosidová glykomimetika jako inhibitory galektinů

Bc. Anna Fröhlichová (Mgr. 1. ročník)
Příprava D-galaktosaminových derivátů pro interakci s galektiny

Bc. Daniel Sebastian Gribbin (Mgr. 1. ročník)
Cy5 značené deriváty digitoxinu

Bc. Andrea Machková (Mgr. 1. ročník)
Cy7 značené lipidové kotvy pro bioorthogonální reakce na liposomu

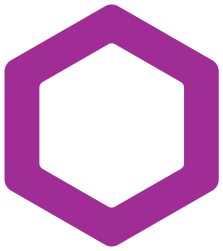
Bc. Eliška Nevšímalová (Mgr. 2. ročník)
Acyklické inhibitory galektinů

Bc. Klára Marie Nováková (Mgr. 3. ročník)
Syntéza nových derivátů urazolu pro vývoj antagonistů napěťově řízených kanálů

Bc. Ondřej Pudil (Mgr. 2. ročník)
Asymetrická syntéza a zavedení atomu deuteria do FDOPA

Bc. Klára Vymětalová (Mgr. 1. ročník)
Nová analoga paklitaxelu pro vazbu na polymer a cílení nádorů

SPONZOŘI – ÚSTAV CHEMIE PŘÍRODNÍCH LÁTEK



Symeres

MAKING MOLECULES MATTER



APIGENEX



Altium

L'ORÉAL

vesmír



SensiQure

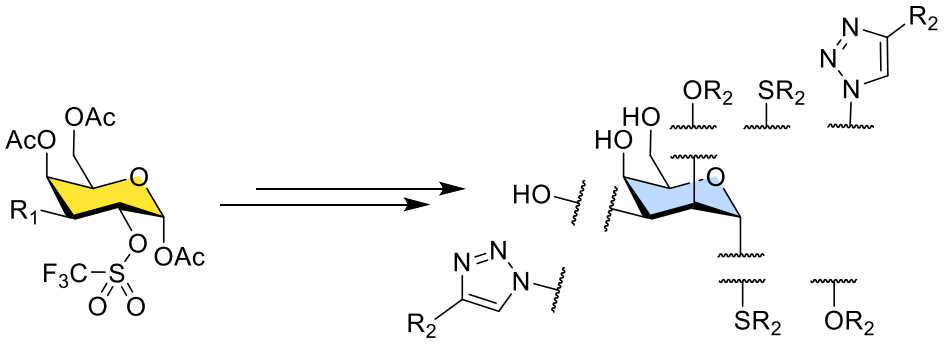
Talopyranosidová glykomimetika jako inhibitory galektinů

Bc. Vojtěch Böhm

M2

Školitel: Ing. Jakub Zýka, Ph.D.

Galektiny jsou skupinou neenzymatických živočišných proteinů, které se podílejí na progresi nádorových onemocnění, a zároveň ovlivňují apoptosu, buněčnou signalizaci a adhezi.[1] Inhibitory galektinů se strukturním motivem D-talopyranosidů jsou obzvlášť zajímavé díky absenci jakýchkoliv lidských proteinů specifických pro tento sacharid, čímž by mělo dojít ke zlepšení farmakokinetických vlastností. Na rozdíl od D-galaktopyranosidů disponují tyto C-2 epimery axiální hydroxylovou skupinou. Tato změna konfigurace umožňuje výhodnější interakce ve vazebném místě a může tak výrazně zvýšit afinitu a selektivitu k jednotlivým galektinům.[2] Cílem práce je připravit nová D-talopyranosidová glykomimetika a stanovit jejich afinitu k vybraným galektinům.



R_1 = OAc, N_3
R_2 = alkyl, acyl, aryl, -H

Schéma 1: Syntetický přístup k D-talopyranosidům

(1) Liu, F. T.; Rabinovich, G. A. Galectins as modulators of tumour progression. *Nat. Rev. Cancer,* **2005**, *5*, 29–41
(2) Öberg, C. T.; Blanchard, H.; Leffler, H.; Nilsson, U. J. Protein subtype-targeting through ligand epimerization: Talose-selectivity of galectin-4 and galectin-8. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2008**, *18* (13), 3691–3694.

Příprava D-galaktosaminových derivátů pro interakci s galektiny

Bc. Anna Fröhlichová

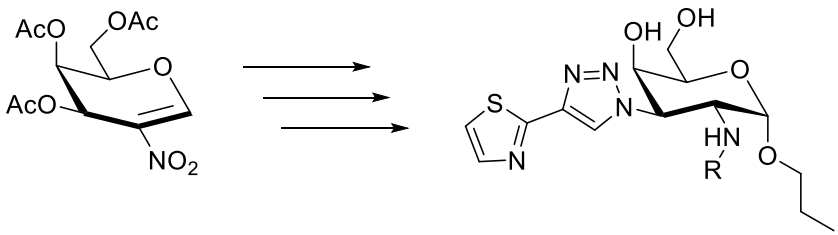
M1

Školitel: doc. Ing. Kamil Parkan Ph.D.

Galektiny jsou podskupinou savčích lektinů, se schopností specificky rozpoznávat a vázat β-galaktosidové struktury[1]. Podílejí se na biochemických procesech jako je buněčná signalizace, adheze[2] nebo imunitní odpověď[3]. Zvýšená exprese galektinu-1 a galektinu-3, která byla pozorována u řady nádorových a zánětlivých onemocnění[4], naznačuje potenciál těchto proteinů jako terapeutických cílů a podporuje zájem o vývoj jejich inhibitorů.

Interakce galektinů se sacharidovými ligandy mohou být ovlivněny změnou substituentů β-galaktosidového skeletu, a to zejména v polohách *C*1, *C*2 a *C*3 (lit[5]). Cílem této práce je syntéza derivátů galaktosaminu, které se liší substitucí na *C*2-amino skupině a následné stanovení jejich afinity ke galektinu-1 a galektinu-3 pomocí metody FPA.

Příprava těchto derivátů využívá syntetický postup vyvinutý naší laboratoří, tedy Ferrierův přesmyk 2-nitroglykalu spjatý s Michaelovou adicí a následnou modifikaci poloh *C*2 a *C*3.



(1) Kamili, N. A.; et al., *Proteomics* **2016**, *16* (24), 3111–3125.
(2) Colin Hughes, R. *Biochimie* **2001**, *83* (7), 667–676.
(3) Liu, F.-T.; Rabinovich, G. A. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2010**, *1183* (1), 158–182.
(4) Johannes, L.; et al., *J. Cell Sci.* **2018**, *131* (9).
(5) Zetterberg, F. R.; et al., *J. Med. Chem.* **2023**, *66* (24), 16980–16990.

Cy5 značené deriváty digitoxinu

Bc. Daniel Sebastian Gribbin

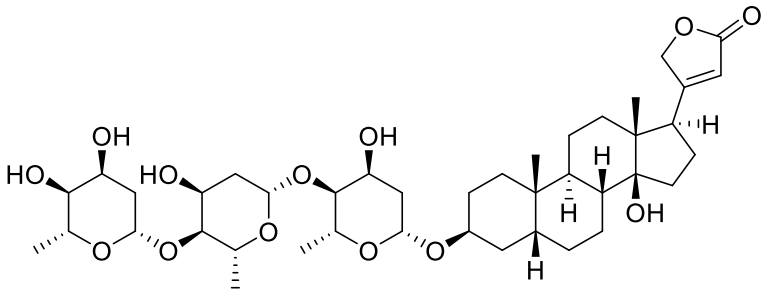
M1

Školitel: doc. Ing. Michal Jurášek, Ph.D.

Srdeční glykosidy jsou přírodní látky, které se využívají k léčbě kardiovaskulárních onemocnění. Mechanismus jejich účinku spočívá v inhibici Na^+/K^+-ATPasy, kdy dojde ke zvýšení koncentrace intracelulárních Ca^{2+} iontů a následnému stahu srdečního svalu. Mají také potenciální protinádorové účinky, které jsou v poslední době studovány. Aby mohly být zkoumány jejich vlastnosti v buňkách, jsou využívána fluorescenční barviva, v tomto případě fluorofor Cy5.

Cílem práce byla syntéza fluorescenčně značených derivátů digitoxinu, což je srdeční glykosid nacházející se v rostlinách rodu *Digitalis*. Již existující Cy5 barviva byla modifikována alkynylací a následně byly připraveny a modifikovány nové asymetrické cyaniny. Značené deriváty digitoxinu byly syntetizovány reakcí alkynylovaného Cy5 barviva a azidoterminovaného digitoxinu s využitím mědí katalyzované azid-alkynové cykloadice (CuAAC).

Bylo připraveno celkem šest derivátů digitoxinu, které byly charakterizovány NMR spektroskopií a HRMS. Tyto deriváty byly dále podrobeny biologickému testování, kdy byla zjištěna jejich cytotoxicita. Výsledky testování mohou pomoci objasnit mechanismus účinků srdečních glykosidů v buňce a přispět k vývoji nových protinádorových látek.



digitoxin

Cy7 značené lipidové kotvy pro bioorthogonální reakce na liposomu

Bc. Andrea Machková

M1

Školitel: doc. Ing. Michal Jurášek, Ph.D.

Rozvoj personalizované medicíny vyžaduje nové theranostické systémy, kombinující diagnostiku a terapii v jediném nástroji. V této souvislosti se liposomy staly předními nosiči léčiv díky svým výjimečným vlastnostem. V předchozím výzkumu byla vyvinuta sonda umožňující pouze fluorescenční značení liposomů. Pro terapeutické aplikace je však nezbytná možnost cílené konjugace. Tato práce popisuje návrh a syntézu nových fluorescenčních lipidových kotev určených k funkcionalizaci liposomů a následným bioortogonálním reakcím.

Vícestupňová syntéza zahrnovala přípravu lipidových kotev s glutamátovou zarážkou a PEG_3 linkerem, navázání fluorescenčního barviva Cy7 a zavedení reaktivní skupiny DBCO. Optimalizací reakčních podmínek – včetně přesné regulace teploty, výběru rozpouštědla, inertní atmosféry a nepřítomnosti světla – byla omezena degradace meziproduktů, maximalizován výtěžek a umožněna syntéza dvou fluorescenčních sond nesoucích různé hydrofobní domény: cholesterol a syntetický větvený lipid (B30). Všechny produkty byly přečištěny pomocí sloupcové chromatografie a preparativní HPLC a jejich struktury a čistota ověřeny pomocí NMR a HRMS. Tyto sondy představují klíčový theranostický nástroj pro modifikaci liposomů, umožňující jak fluorescenční zobrazování, tak cílený transport léčiv.

Acyklické inhibitory galektinů

Bc. Eliška Nevšímalová

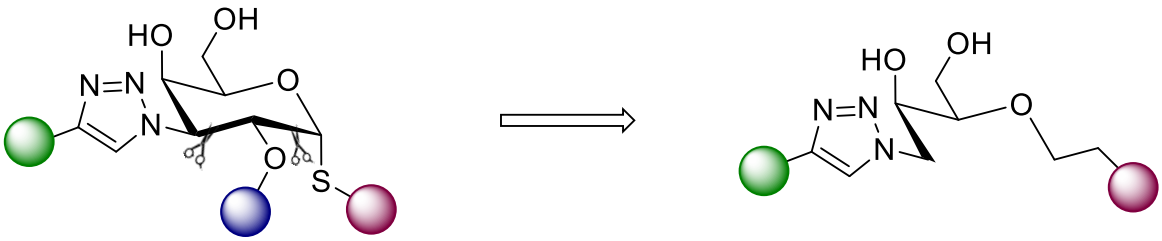
M2

Školitel: doc. Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

Galektiny jsou rodinou lektinů rozeznávajících sacharidové struktury s β-D-galaktopyranosidovými zbytky prostřednictvím domény pro rozpoznávání sacharidu (CRD). Působí jako signální molekuly, podílejí se na řízení buněčného cyklu a fungují jako mediátory imunitni odpovědi. U některých typů nádorových onemocnění a fibrotických stavů byla pozorována jejich zvýšená exprese. Nejlépe prostudovanými zástupci jsou galektin-1 a -3, u nichž byla zvýšená exprese spojena s horší prognózou a vyšší tendencí k tvorbě metastáz. Inhibice galektinů proto představuje atraktivní strategii pro vývoj nových terapeutik.[1-3]

Přirozené ligandy galektinů, například laktosa nebo *N*-acetyllaktosamin, nesplňují základní požadavky na léčiva – mají nízkou afinitu i biologickou dostupnost. K jejich náhradě lze využít glykomimetika, tedy strukturní a funkční napodobeniny sacharidů navržené tak, aby vykazovaly vyšší chemickou a enzymatickou stabilitu a srovnatelnou nebo vyšší afinitu a selektivitu k danému cíli než jeho přirozený ligand.[4] Pro účinnou inhibici přitom není nutné zachovat celou sacharidovou strukturu.

Cílem této práce je navázat na předchozí výzkum v naší laboratoři[5] a připravit sérii acyklických derivátů s vysokou afinitou ke galektinům -1 a -3, které galaktopyranosový skelet pouze napodobují.



známé inhibitory **cílový motiv**

(1) Dahlqvist, A.; et al. *ACS Omega* **2019**, *4* (4), 7047-7053.
(2) Bertuzzi, S.; et al. *Front. Chem.* **2020**, *8*, 593.
(3) Johannes, L.; et al. *J. Cell Sci.* **2018**, *131* (9).
(4) Leusmann, S.; et al. *Chem. Soc. Rev.* **2023**, *52* (11), 3663-3740.
(5) Bendová, L. Acyclic glykomimetics for inhibition of galectins. Masters, UCT, Prague, 2026.

Syntéza nových derivátů urazolu pro vývoj antagonistů napěťově řízených kanálů

Bc. Klára Marie Nováková

M3

Školitel: prof. Ing. Zdeněk Wimmer, DrSc.

Chronická bolest a epilepsie představují významné zdravotní problémy, pro jejichž léčbu je třeba hledat nové terapeutické možnosti. Slibným cílem jsou specifické iontové kanály, které se podílejí na regulaci neuronální aktivity a mohou představovat vhodné terapeutické cíle. Projekt se zaměřuje na syntézu nových sloučenin, z nichž bude vytvořena knihovna látek určených k následnému testování biologické aktivity na vybraných iontových kanálech. Současně probíhá vývoj a optimalizace radikálové kaplinkové reakce využívající N-heterocyklické persistentní radikály jako nástroj pro přípravu cílových sloučenin.

Asymetrická syntéza a zavedení atomu deuteria do FDOPA

Bc. Ondřej Pudil

M2

Školitel: doc. Ing. Michal Jurášek, Ph.D.

Deuterovaná analoga známých léčiv si v posledních letech získala značnou popularitu. Zavedení těžšího izotopu vodíku, deuteria, vede ke změnám v kinetice biotransformace léčiv. To je způsobeno skutečností, že vazba C-D je pevnější než vazba C-H, což vyvolává kinetický izotopový efekt. Experimentálně bylo potvrzeno, že zavedení deuteria do polohy alfa prodlužuje biologický poločas L-3,4-dihydroxyfenylalaninu (L-DOPA) v mozku. 6-[^{18}F]fluor-L-3,4-dihydroxyfenylalanin (FDOPA) je radiofarmakum používané při vyšetřeních pozitronovou emisní tomografií (PET), sloužící k zobrazování onkologických a neurodegenerativních onemocnění. Lze tedy očekávat, že zavedení atomu deuteria do molekuly FDOPA by mělo vést k potlačení periferního metabolismu, který způsobuje šum v PET snímcích, což by následně mělo přinést výrazné zvýšení kvality výsledného snímku. Během prezentace bude představen koncept syntézy enantiomerně čisté d_1-FDOPA pomocí chirálních Ni^{2+} komplexů a současný stav výzkumu.

Nová analoga paklitaxelu pro vazbu na polymer a cílení nádorů

Bc. Klára Vymětalová

M1

Školitel: doc. Ing. Michal Jurášek, Ph.D.

Paklitaxel (PTX) je přírodní, strukturně unikátní diterpen, který byl původně izolován z kůry *Taxus brevifolia*. V roce 1992 byl FDA schválen pro své antimitotické účinky k léčbě širokého spektra nádorových onemocnění. Léčbu paklitaxelem však komplikuje několik překážek, zejména nové mutace rakovinných onemocnění a rostoucí rezistence nádorů k tomuto léčivu. V chemických transformacích PTX je proto třeba zkoušet nové modifikace s důrazem na možnost cíleného uvolňování léčiva v místě nádorové tkáně. Moderním přístupem k této problematice je pH-responzivní vazba látky na polymerní nosič, kde k uvolnění léčiva dochází vlivem tělu přirozených změn.

Cílem práce byly návrh a syntéza nových derivátů paklitaxelu spočívající v substituci farmakoforu postranního řetězce – 3'-*N*-benzoylu. Výchozí látkou pro syntézu byl 3'-*N*-debenzoyl paklitaxel připravený již dříve popsanou tříkrokovou debenzoylací PTX. Pro syntézu analogů byla využita amidová kondenzace 3'-*N*-debenzoyl paklitaxelu a vybraných karboxylových kyselin za katalýzy HATU. Připravené deriváty byly podrobeny předběžnému biologickému testování.

Ústav chemie přírodních látek – B

MÍSTO: RESPIRIUM

KOMISE

prof. Dr. RNDr. Oldřich Lapčík

Ing. Roman Effenberg, Ph.D.

RNDr. Milan Boublík, Ph.D. (Symeres)

PROGRAM

9:00 **zahájení**

Bc. Radka Batelková (Mgr. 2. ročník)

Bioaktivní alkaloidy rostliny Tabernanthe iboga *Baill.*

Lukáš Bukověcký (Bc. 3. ročník)

Optimalizace extrakce a izolace opioidních alkaloidů s využitím molecular networkingu

Matyáš Luňáček (Bc. 3. ročník)

Selektivní inhibitory galektinu-3: od mléčného sacharidu k léčbě rakoviny plic

Lucie Messnerová (Bc. 3. ročník)

Syntéza nových derivátů 2,6-dimethoxyfenethylaminů s potenciálním vlivem na neuroplasticitu

Bc. Hana Panchártková (Mgr. 1. ročník)

Od chemické syntézy k biologické pravdě: Kyselina lupinová jako interní standard pro detekci v rostlinách

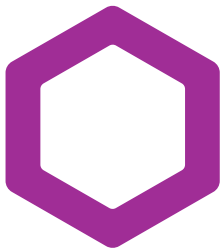
Ján Simon (Bc. 3. ročník)

Selektivita syntézy α-(2,3)-glykosidů kyseliny N-acetylneuraminové a její využití pro studium buněčných struktur glykoRNA

Karolína Vencláková (Bc. 3. ročník)

Organofotokatalyzovaná adice derivátů cysteinu na 2-alkoxy glykaly: Cesta k novým galektinovým glykomimetikům

SPONZOŘI – ÚSTAV CHEMIE PŘÍRODNÍCH LÁTEK



Symeres

MAKING MOLECULES MATTER



APIGENEX



Altium

L'ORÉAL

vesmír



SensiQure

Bioaktivní alkaloidy rostliny Tabernanthe iboga Baill.

Bc. Radka Batelková

M2

Školitel: PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.

Tabernanthe iboga Baill. je rostlina z čeledi toješťovitých (*Apocynaceae*) pocházející ze střední Afriky, jejíž kořenová kůra obsahuje významné množství biologicky aktivních indolových alkaloidů. Mezi ně patří ibogamin, ibogalin, voacangin, coronarindin a hlavní zástupce ibogain. Ten je hlavně zodpovědný za farmakologické účinky rostliny. Rostoucí zájem o ibogain, zejména v souvislosti s jeho potenciálním využitím při léčbě závislostí, zvyšuje potřebu analytické kontroly komerčně dostupných produktů obsahujících *T. iboga* nebo ibogain. Cílem této práce je navázat na předchozí vývoj analytické metody a dále optimalizovat postup extrakce sledovaných alkaloidů z kořenové kůry. Optimalizovaný postup bude následně využit pro analýzu reálných vzorků kořenových kůr. Pro stanovení známých alkaloidů bude využita cílená HPLC-MS metoda, zatímco necílený přístup umožní sledovat další metabolické složky a případné cizorodé látky. Získané výsledky mohou přispět k hodnocení složení, kvality a autenticity komerčních produktů obsahujících alkaloidy *T. iboga*.

Optimalizace extrakce a izolace opioidních alkaloidů s využitím molecular networkingu

Lukáš Bukověcký

B3

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

Zkoumání druhů rostlin či hub za účelem objevu nových látek s biologickou aktivitou v sobě nese mnohá úskalí – kupříkladu velké množství analýz, jež je jak finančně, tak časově náročné. Molecular networking (MN) je výpočetní metoda mapující souvislosti na základě dat získaných LC-MS/MS analýzou. Funguje na principu porovnávání fragmentačních vlastností. Podobné molekuly jsou spojované do shluků. Metoda díky srovnávání se spektrálními knihovnami umožňuje anotaci molekul a také i návrh chemických struktur. Její výhodou je přehledná vizualizace komplikovaných dat a jejich souvislostí pomocí interaktivní sítě.

Naším cílem je do těchto vygenerovaných sítí k jednotlivým molekulám přidělit informaci o jejich podílu na biologické aktivitě, měřené pomocí metody BRET (bioluminiscence resonance energy transfer), kdy ke klasifikaci bude využito korelačních koeficientů, případně i pokročilých statistických metod.

Jako modelový organismus pro naši analýzu jsme zvolili kratom (*Mitragyna speciosa*), rostlinu s dobře charakterizovaným obsahem strukturně podobných alkaloidů vyznačujících se různou mírou biologické aktivity.

Výsledkem práce by měla být univerzální metoda ulehčující výběr potenciálně aktivních látek a postupu jejich izolace.

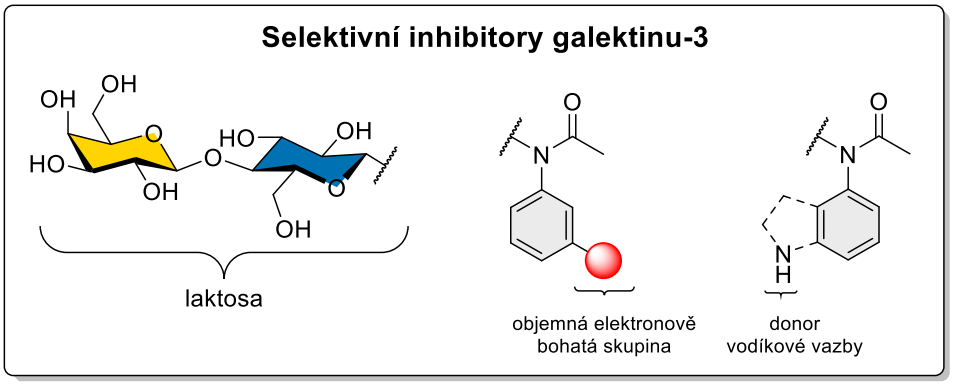
Selektivní inhibitory galektinu-3: od mléčného sacharidu k léčbě rakoviny plic

Matyáš Luňáček

B3

Školitel: Ing. Jakub Zýka Ph.D.

Galektin-3 je chimerní protein z rodiny galektinů, tvořící homodimery a oligomery – průvodce jeho biologické aktivity.[1] Mezi jeho hlavní funkce patří přenos signálu mezi buňkami, nebo mezi buňkou a extracelulární matrix.[1] Tyto funkce hrají velkou roli při progresu široké škály nemocí, například chronických zánětů, nebo různých typů rakoviny,[2] při kterých tvorba tohoto proteinu přesahuje fyziologickou mez.[1] Z toho důvodu je galektin-3 během posledních let cílem řady farmakologických výzkumů. Při rozvoji rakoviny plic se galektin-3 váže na poly-*N*-acetyllaktosyl amidy *N*-oligosacharidů na povrchu melanomů,[1] takže právě *N*-acetyllaktosyl amidy se tak staly jednou z možností jeho selektivní inhibice. V naší práci se zaměřujeme na syntézu využívající 2 typy formálních derivátů anilinu: látky s objemnou a elektronově bohatou skupinou v pozici 3 a látky s dusíkatými heterocykly, fungujícími jako donory vodíkové vazby, připojenými přímo na benzenovém jádře. Syntéza všech těchto potenciálních inhibitorů se skládá ze 3 jednoduchých kroků, na jejichž konci dostáváme biologicky aktivní látku připravenou inhibovat námi cílený protein.



(1) Farhad, M.; Rolig, A. S.; Redmond, W. L. The role of Galectin-3 in modulating tumor growth and immunosuppression within the tumor microenvironment. *Oncoimmunology* **2018**, *7* (6), e1434467. DOI: 10.1080/2162402X.2018.1434467 From NLM PubMed-not-MEDLINE.
(2) Ahmed, R.; Anam, K.; Ahmed, H. Development of Galectin-3 Targeting Drugs for Therapeutic Applications in Various Diseases. *Int J Mol Sci* **2023**, *24* (9). DOI: 10.3390/ijms24098116 From NLM Medline.

Syntéza nových derivátů 2,6-dimethoxyfenethylaminů s potenciálním vlivem na neuroplasticitu

Lucie Messnerová

B3

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

Serotonergní psychedelika jsou v současnosti zkoumána pro své psychoplastogenní účinky a vykazují tím terapeutický potenciál v psychiatrii, při léčbě farmakorezistentní deprese či PTSD. Hlavním farmakologickým cílem těchto látek je 5-HT_{2A} receptor. Strukturálně se dělí na tryptaminy, lysergamidy a fenethylaminy, jež tvoří hlavní předmět této práce.

Mezi deriváty fenethylaminu patří endogenní neurotransmitery jako adrenalin, amfetaminové stimulanty i klasická psychedelika jako meskalin či rodina 2C-x, jejichž silná biologická aktivita byla prokázána in vitro i in vivo. Výrazným farmakoforem v této skupině je 2,5-dimethoxyfenethylaminový skelet. Na ten navázal výzkum nových psychedelik s vysokou afinitou vůči 5-HT_{2A} receptorům, ten vedl ke vzniku rodin NBOMe, FLY či DragonFLY.

Dalším prokázaným farmakoforem jsou 2,6-dimethoxyfenethylaminy (tzv. ψ-deriváty). Tyto látky však nebyly podrobněji zkoumány, především kvůli relativně nižší receptorové afinitě. Právě na syntézu těchto ψ-derivátů jsem se zaměřila ve své práci. Pro účely tohoto výzkumu byla navržena a vyvinuta syntéza *N*-Boc-aziridinu, jenž zde figuruje jako reaktivní výchozí prekurzor.

Od chemické syntézy k biologické pravdě: Kyselina lupinová jako interní standard pro detekci v rostlinách

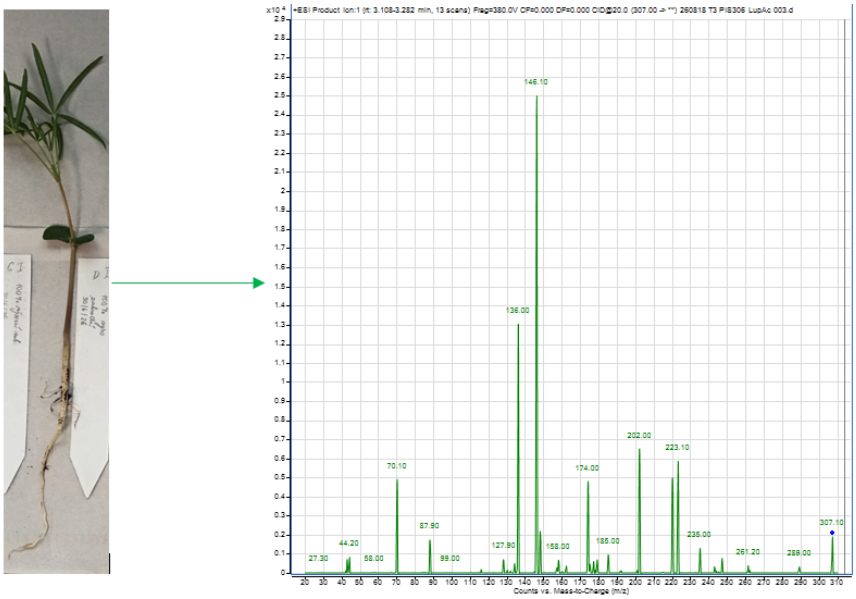
Bc. Hana Panchártková

M1

Školitel: doc. Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

Tato práce se zabývá inaktivací rostlinného hormonu *trans*-zeatinu konjugací s alaninem v pozici N9 purinového kruhu. Tento hormon patří do skupiny cytokininů, které regulují klíčové fyziologické procesy, jako je buněčné dělení, oddálení senescence nebo fylotaxe.

Hlavním cílem práce byla chemická syntéza kyseliny lupinové (=konjugátu N9-alanyl-*trans*-zeatinu), která posloužila jako interní standard pro kvantifikaci endogenních hladin v rostlinných pletivech *Lupinus polyphyllus* pomocí HPLC/MS. V extraktech připravených z listů a květů nebyla kyselina lupinová detekována, byla v nich však detekována látka se stejným *m/z*, ale odlišnou fragmentací atypickou pro *trans*-zeatin. Součástí práce bylo také stanovení biologické aktivity syntetických meziproduktů pomocí duálního transgenního reportérového systému. V posledním experimentu byly rostlinky *Lupinus angustifolius* inkubovány v roztoku *trans*-zeatinu, přičemž v listovém extraktu již byla kyselina lupinová úspěšně detekována.



Obr. 1: Lupinus angustifolius a fragmentační spektrum po „feedovacím experiment

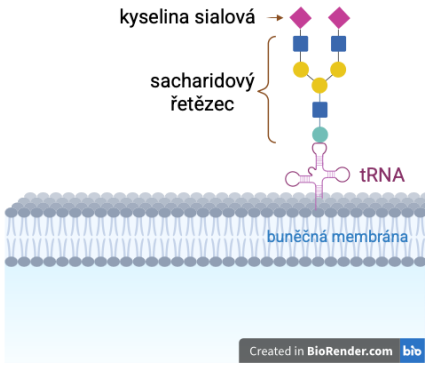
Selektivita syntézy α-(2,3)-glykosidů kyseliny N-acetylneuraminové a její využití pro studium buněčných struktur glykoRNA

Ján Simon

B3

Školitel: doc. Ing. Kamil Parkan, Ph.D.

Glykosylovaná RNA (glykoRNA) je struktura vyskytující se převážně na povrchu lidských buněk. Může modulovat imunitní odpověď organismu při onemocnění nebo být využita jako jeho diagnostický biomarker. Je tvořena RNA nesoucí N-glykany, jejichž terminálním sacharidem bývá kyselina *N*-acetylneuraminová (Neu5Ac) ze skupiny sialových kyselin.[1] Cílem této práce je připravit disacharid Neu5Acα2→3Galβ1-N_3 s α-(2→3)-glykosidickou vazbou typickou pro tyto sacharidové epitopy. Azidová skupina v anomerní poloze β-D-galaktosy umožní pozdější napojení linkeru azid-alkynovou cykloadicí. Obtížným krokem syntézy ve skupině sialových kyselin je jejich selektivní α-glykosidace, a to ze dvou důvodů: přítomnost elektron-akceptorní karboxylové skupiny, která destabilizuje oxokarbeniový intermediát a absence participujícího substituentu glykosyl donoru v deoxygenované poloze C-3. Práce se proto zaměřuje na vliv volby chránicích skupin na stereochemický výsledek glykosylace. K aktivaci anomerní polohy bude použit N-fenyltrifluoroacetoimidoyl chlorid[2] a ftalimidové chránění[3] jako náhrada *N*-acetylové skupiny. Navazující studií bude posouzení biologické aktivity připraveného disacharidu po jeho navázání přes linker na oligonukleotid. Příprava konjugátu však není součástí experimentální části této práce.



1. Yi, L.; Zhou, Y.; Zhang, C.; Lu, H.; Xie Y.;. GlycoRNA research: from unknown unknowns to known unknowns. *Protein & Cell*. **2026**, 17 (2), 1–20.

2. Cai, S.; Yu, B.;. Efficient Sialylation with Phenyltrifluoroacetimidates as Leaving Groups. *Organic letters*. **2003**, 5 (21), 3827–3830.
3. Tanaka, S.; Goi, T.; Tanaka, K.; Fukase, K.;. Highly Efficient α-Sialylation by Virtue of Fixed Dipole Effects of N-Phthalyl Group: Application to Continuous Flow Synthesis of α(2-3)-and α(2-6)-Neu5Ac-Gal Motifs by Microreactor. *Journal of Carbohydrate Chemistry*. **2007**, 26 (7), 369–394.

Organofotokatalyzovaná adice derivátů cysteinu na 2-alkoxy glykaly: Cesta k novým galektinovým glykomimetikům

Karolína Vencláková

B3

Školitel: Ing. Jakub Zýka, Ph.D.

Galektiny představují rodinu proteinů specificky vázajících β-galaktosidové motivy, jež v organismu řídí řadu fyziologických procesů a buněčnou komunikaci. Jejich cílená inhibice, především galektinů Gal-1 a Gal-3, otevírá nové možnosti v léčbě rakoviny a tkáňových fibróz. [1] Přirozené sacharidové ligandy však rychle podléhají enzymatickému rozkladu. Nahrazení glykosidického kyslíku sírou v kombinaci s méně běžnou 1,2-*cis* (α) konfigurací poskytuje hydrolyticky stabilní glykomimetika s vysokou selektivitou k vazebné doméně (CRD) galektinu-3. [2]

Syntéza α-thioglykosidů často postrádá dostatečnou stereoselektivitu a vede ke vzniku významného množství nežádoucích β-anomerů. Tato práce se zaměřuje na stereoselektivní přípravu nových galektinových inhibitorů odvozených od cysteinu (Obr. 1). Klíčový krok spočívá v přímé tvorbě thioglykosidické vazby pomocí radikálové thiol-enové adice na připravený 2-alkoxygalaktal. Reakce probíhá za mírných podmínek při ozařování modrým světlem za katalýzy akridiniovou solí v přítomnosti báze. [3]



***Obr. 2*:** Stereoselektivní syntéza 1,2-*cis*-thiogalaktosidů odvozených od cysteinu.

[1] MacKinnon, A. C. et al. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **2012**, *185* (*5*), 537–546.

[2] Zetterberg, F. R. et al. *J. Med. Chem.* **2022**, *65* (*19*), 12626–12638.

[3] Zhao, G.; Kaur, S.; Wang, T. *Org. Lett.* **2017**, *19* (*12*), 3291–3294.