



FAKULTA POTRAVINÁŘSKÉ
A BIOCHEMICKÉ TECHNOLOGIE
VŠCHT PRAHA

Studentská Vědecká Konference

2025

20. 11 2025

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 CEREÁLÍ

Ing. Roman Bleha, Ph.D.

[322](#) ÚSTAV MLÉKA, TUKŮ A KOSMETIKY

doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

[323](#) ÚSTAV ANALÝZY POTRAVIN A VÝŽIVY

Ing. Martina Vlčková

[324](#) ÚSTAV KONZERVACE POTRAVIN

Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

[342](#) ÚSTAV CHEMIE PŘÍRODNÍCH LÁTEK

Ing. Jakub Zýka, Ph.D.

Ústav biotechnologie (319)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Ivana Křížová, Ph. D.

SEZNAM SEKČÍ

1. Biotechnologie I
2. Biotechnologie II

SPONZOŘI

arxada

 **SHIMADZU**
Excellence in Science

 **BECKMAN
COULTER**


Pilsenský Prazdroj

bioTech
innovative

MERCK

 **La Lorraine**
BAKERY GROUP

 **fisher scientific**
part of Thermo Fisher Scientific

 **DYNEX**

 **Altium**

Biotechnologie I

MÍSTO: A111, KNIHOVNA ÚSTAVU BIOTECHNOLOGIE

KOMISE

prof. Ing. Alena Čejková, CSc. (předseda)

Ing. Marcel Karabín, Ph. D.

Ing. Matěj Danda

PROGRAM

09:00 zahájení

Bc. Sofia Artemova (Mgr. 2. ročník)

Na cestě ke kombinované terapii: zkoumání vlivu rostlinných extraktů na aktivitu bakteriofágů.

Nikita Borisov (Bc. 3. ročník)

Využití ligninových mikročástic při stabilizaci Pickeringových emulzí

Bc. Kryštof Kříž (Mgr. 2. ročník)

Možnosti eliminace nežádoucích mikroorganismů ve vinařství

Bc. Karina Lahučká (Mgr. 2. ročník)

Vliv rostlinných silic na růst mikromycety Fusarium culmorum

Bc. Barbora Malíková (Mgr. 2. ročník)

Využití mikrořas pro stimulaci růstu rostlin – fytotoxicita preparátů

Bc. Jakub Maňák (Mgr. 2. ročník)

Vliv kombinace antibakteriálních látek a netermálního plazmatu na biofilm Pseudomonas aeruginosa

Bc. Hana Moravcová (Mgr. 2. ročník)

Účinky odpadního extraktu z Cannabis sativa vůči bakteriálním zástupcům rostlinné mikrobioty

Bc. Anna Riedlová (Mgr. 2. ročník)

Vliv netermálního plazmatu na kvasinky rodu Candida

Bc. Karolína Smítková (Mgr. 2. ročník)

Eubiotika a jejich vliv na kožní mikrobiom

Bc. Ondřej Tax (Mgr. 2. ročník)

Vliv podmínek extrakce a technologického zpracování na obsah katechinů v čaji

Na cestě ke kombinované terapii: zkoumání vlivu rostlinných extraktů na aktivitu bakteriofágů.

Bc. Sofia Artemova

M2

Doc. Ing. Olga Mařátková, Ph.D.

Svět čelí jedné z největších medicínských hrozeb moderní doby: antibiotické rezistence. Podle statistik Světové zdravotnické organizace bylo jenom za rok 2019 přibližně 1,27 milionů úmrtí přímo zapříčiněno mikroorganismy s antimikrobiální rezistencí, z nichž největší podíl připadal na bakteriální původce. Vědecká komunita proto aktivně hledá vhodnou alternativu k antibiotikům. Mezi potenciální kandidáty se nabízí fytoterapie a léčba pomocí bakteriofágů. Cílem této práce bylo vybudovat základ pro zkoumání kombinovaného použití těchto dvou přístupů a zaměřit se na vyloučení antagonistických interakcí mezi rostlinnými extrakty a bakteriofágy. Experimenty se vykonávaly na bakteriofázích účinkujících na methicilin-rezistentní kmen *Staphylococcus aureus*. Bakteriofágy byly vystavovány působení extraktů z révy vinné a konopí setého. Následné zjištění aktivity bakteriofágů bylo prováděno na základě počtu bakteriofágových plaků zformovaných na Petriho miskách s kulturou *Staphylococcus aureus*. Podařilo se nám stanovit, že extrakt z révy vinné působí na bakteriofágy inhibičně. Na druhou stranu extrakt z konopí setého fágovou aktivitu neovlivňuje a může tak být použit v navazujících experimentech pro kombinovanou aplikaci v rámci léčby onemocnění vyvolaných *Staphylococcus aureus*.

Využití ligninových mikročastic při stabilizaci Pickeringových emulzí

Nikita Borisov

B3

doc. Ing. Irena Jarošová, Ph.D.

Cílem práce je stanovit podmínky přípravy Pickeringových emulzí stabilizovaných ligninovými mikročasticemi (LPs), které tvoří vrstvu na rozhraní vodné a olejové fáze. Vodné disperze LPs byly smíchány s vybranými oleji a charakterizovány s cílem stanovit vhodný poměr mezi oběma fázemi. Vznik emulze a její stabilita byly hodnoceny pomocí mikroskopie a dynamickým rozptylem světla. Práce zahrnuje také zavedení alternativní přípravy LPs za účelem přípravy dostatečného množství materiálu.

Emulze byly úspěšně připraveny smícháním ekvivalentních objemů olejové fáze a vodné disperze LPs. Nejvyšší stabilitu vykazovaly systémy s obsahem vodné disperze 0,5% (w/w) LPs, zatímco nižší koncentrace vedly ke snížení stability. Dále byla pozorována závislost mezi polaritou olejové fáze a stabilitou emulze, přičemž emulze s nepolárními oleji byly stabilnější. Do této fáze projektu se nepovedlo zavést metodu přípravy LPs, která by poskytovala disperze o vyšších koncentracích při zachování koloidní stability a vhodné morfologie částic v porovnání s dříve zavedeným protokolem.

Do budoucna se počítá s aplikací postupu přípravy emulzí pro tvorbu systémů s hybridními LPs-kov, například stříbrem. U těchto systémů bude hodnocen vliv kovu na stabilitu emulze a následně jejich antimikrobiální účinnost.

Možnosti eliminace nežádoucích mikroorganismů ve vinařství

Bc. Kryštof Kříž

M2

Ing. Markéta Kulišová Ph.D.

Sanitace hraje ve vinařském průmyslu klíčovou roli, neboť čistota technologického zařízení, nádob i samotného prostředí zásadně ovlivňuje kvalitu výsledného vína. Tato studie se zabývá využitím netermálního plazmatu (NTP) jako možného prostředku sanitace ve vinařském průmyslu. Cílem práce bylo ověřit účinek NTP na nežádoucí kvasinku *Dekkera bruxellensis*, která produkuje těkavé kyseliny negativně ovlivňující sensorické vlastnosti vína, a dále na mikroorganismy přítomné ve vinném kalu. Plazma byla generována dvěma typy plazmových generátorů a testována na kmenech *D. bruxellensis* DSM 70001 a DSM 70742, dále na vinařských kvasinkách a na bakteriálním kmeni *Oenococcus oeni* DSM 20255. Experimenty rovněž zahrnovaly aplikaci plazmatu na vzorky vinných kalů z vinařství Habánské sklepy. Výsledky ukazují, že netermální plazma účinně inhibuje metabolickou aktivitu testovaných mikroorganismů. Při použití NTP-N na komerčně dostupné vinařské kvasinky FERMOL Davis 522, byl pozorován 20% pokles metabolické aktivity kvasinek, což potvrzuje její potenciál pro využití při sanitaci v procesu výroby vína.

Vliv rostlinných silic na růst mikromycety *Fusarium culmorum*

Bc. Karina Lahučká

M2

Prof. Ing. Tomáš Brányik, Ph.D.

Fytopatogenní mikromycety rodu *Fusarium* způsobují významné ztráty zemědělských plodin a produkují toxické mykotoxiny. Vzhledem k negativním dopadům syntetických fungicidů roste zájem o přírodní alternativy šetrnější k životnímu prostředí. Rostlinné silice s prokázanými antimikrobiálními účinky představují slibnou alternativu využití jako biofungicidy. Cílem této práce bylo otestovat antifungální účinek dvanácti silic z čeledí miříkovitých, hluchavkovitých, santalovitých a borovicovitých proti kmeni *Fusarium culmorum* DBM 4044. Účinek silic ve třech koncentracích byl hodnocen dle inhibice růstu mycelia na kultivačním médiu. Nejvýraznější inhibiční účinek prokázaly silice kmínu (*Carum carvi*), santalu (*Santalum album*), tymiánu (*Thymus vulgaris*) a monoterpenu karvon. Významný efekt byl zaznamenán také u silic rozmarýnu (*Rosmarinus officinalis*), celeru (*Apium graveolens*) a mrkve (*Daucus carota*). Tyto výsledky potvrzují potenciál vybraných silic pro další výzkum a využití v oblasti udržitelného zemědělství.

Využití mikrořas pro stimulaci růstu rostlin – fytotoxicita preparátů

Bc. Barbora Malíková

M2

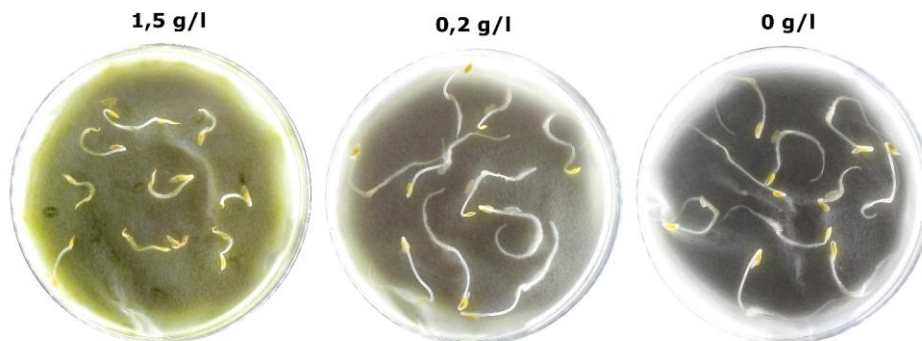
doc. Ing. Martin Halecký Ph.D.

Trvalé používání syntetických stimulantů a pesticidů v zemědělství způsobuje významné problémy z hlediska životního prostředí a udržitelnosti, včetně emisí skleníkových plynů a degradace půdy. Nedávný výzkum naznačuje, že biostimulace, například s využitím mikroskopických řas nebo cyanobakterií, by mohla být potenciální náhradou za v současné době používané stimulanty. S využitím biostimulací by mohlo být možné i omezení používaných dávek hnojiv.

Jedním ze slibných přístupů je použití mikrořasy *Chlorella vulgaris* nebo jiných mikrořas nebo cyanobakterií. Mikrořasy a cyanobakterie mohou produkovat fytohormony a jiné látky, prospěšné pro růst cévnatých rostlin.

Testovány byly preparáty připravené z mikrořasy *Chlorella vulgaris* a cyanobakterie *Tolypothrix tenuis*, vždy ve třech variantách zpracování biomasy a v různých koncentracích. Varianty zpracování biomasy byly mražení, sušení a dezintegrace, použité koncentrace byly 1,5 g/l, 0,6 g/l, a 0,2 g/l suché váhy biomasy. Testy fytotoxicity jednotlivých preparátů byly prováděny s klíčovými semeny lociky seté (*Lactuca sativa* L.) a porovnány vůči kontrolní skupině se sterilní vodou.

Výsledky poukazují na možný biostimulační efekt testovaných preparátů s nižšími koncentracemi. U vyšších koncentrací biomasy – nad 1 g/l – se začíná projevovat inhibiční efekt preparátů.



Obrázek 1: Semena lociky seté po týdenní kultivaci se vzorky dezintegrováných buněk mikrořasy *Chlorella vulgaris*, v různých koncentracích včetně kontrolní skupiny (koncentrace 0 g/l).

*Vliv kombinace antibakteriálních látek a netermálního plazmatu na biofilm *Pseudomonas aeruginosa**

Bc. Jakub Maňák

M2

Ing. Markéta Kulišová, Ph.D.

ESKAPE bakterie představují skupinu klinicky významných mikroorganismů vyznačujících se vysokou antibiotickou rezistencí a schopností tvorby biofilmu. Mezi nejzávažnější patogeny patří *Pseudomonas aeruginosa*. Cílem práce bylo popsat vliv novější metody suprese růstu mikroorganismů, která využívá netermálního plazmatu (NTP), v kombinaci s antimikrobiálními látkami na bakteriální biofilm skupiny ESKAPE. NTP bylo generováno dvěma generátory s odlišným zastoupením reaktivních částic a jeho účinek byl testován v kombinaci s polymyxinem B na dvou kmenech *Pseudomonas aeruginosa* (PAO1 a PA10145). Metabolická aktivita ošetřených bakteriálních biofilmů byla vyhodnocována spektrofotometricky na principu tvorby formazanu metabolicky aktivními buňkami. Expozice NTP vedla ke snížení metabolické aktivity biofilmu, přičemž kombinace s antibiotickou látkou dále zvyšovala inhibici. Získané výsledky potvrdily synergický efekt působení NTP a antimikrobiálních látek.

Účinky odpadního extraktu z *Cannabis sativa* vůči bakteriálním zástupcům rostlinné mikrobioty

Bc. Hana Moravcová

M2

Ing. Jana Michailidu, Ph.D.

Zemědělský průmysl v současnosti čelí výzvě v podobě zvyšujících se nároků na produkci a zároveň problémům v podobě resistance rostlinných patogenů, degradace kvality půd a snižování přirozené biodiverzity v důsledku nadužívání hnojiv a pesticidů.

Biopreparáty, schopné ovlivňovat růst mikroorganismů asociovaných s rostlinami, mohou představovat vhodnou doplňující či alternativní variantu k aplikacím konvenčních zemědělských prostředků. Jedny z možných kandidátů jsou biopreparáty na bázi rostlinných extraktů, které přirozeně obsahují biologicky aktivní látky.

Tato práce se věnuje testování vlivu extraktu ze sušiny technického konopí setého (*Cannabis sativa*) vůči gramnegativním bakteriím *Pseudomonas fluorescens* ATCC 13525 a *Serratia marcescens* ATCC 13880. Jedná se o bakterie shledávané jako benefiční a podpůrné pro růst rostlin. Byla sledována aktivita extraktu vůči suspenzním buňkám pomocí mikrokultivačního zařízení Bioscreen C, dále aktivita vůči adhezujícím buňkám se stanovením metabolické aktivity pomocí MTT a hodnocen byl i baktericidní efekt. U obou mikroorganismů byl pozorován nárůst až do koncentrace 50,5 mgGA/l extraktu, při vyšších koncentracích poté docházelo k inhibici růstu.

Vliv netermálního plazmatu na kvasinky rodu *Candida*

Bc. Anna Riedlová

M2

doc. Ing. Jarošová Irena, Ph.D.

Netermální plazma (NTP), označované také jako nízkoteplotní plazma, se v posledních dvaceti letech uplatňuje v široké škále oborů, mimo jiné v mikrobiologii, dermatologii či stomatologii. Jeho účinek je založen na vysoké reaktivitě iontů a elektronů, které interakcí s okolním plynem nebo kapalinou vytvářejí reaktivní kyslíkové (ROS) a dusíkové částice (RNS). Tyto částice vykazují výrazné antimikrobiální účinky a mohou ovlivňovat životaschopnost i odolnost mikroorganismů.

V této práci bylo sledováno působení NTP s kyslíkovými a dusíkovými radikály na biofilm kvasinek *Candida albicans* a *Candida parapsilosis*. Účinnost byla testována na sbírkových i klinických izolátech, známých svou rezistencí vůči běžným antifungálním látkám. Cílem bylo ověřit, zda NTP může omezit nebo zcela zastavit metabolickou aktivitu těchto patogenních kvasinek. Hodnocena byla metabolická aktivita buněk po 24 a 48 hodinách po expozici. Výsledky ukázaly, že klinické izoláty byly citlivější k působení NTP, s poklesem metabolické aktivity až o 30 % u *C. albicans* a o 50 % u *C. parapsilosis*. Získané poznatky naznačují potenciál využití NTP v terapii dermálních kvasinkových infekcí a rozvoji nových antifungálních přístupů.

Eubiotika a jejich vliv na kožní mikrobiom

Bc. Karolína Smítková

M2

doc. Ing. Petr Kaštánek, Ph.D.

Eubiotika představují moderní skupinu látek kombinujících výhody probiotik, prebiotik a postbiotik. Prostřednictvím bioaktivních metabolitů produkovaných například bakteriemi mléčného kvašení dokážou cíleně ovlivňovat složení a aktivitu kožního mikrobiomu a podporovat přirozené obranné mechanismy kůže. Tyto látky lze získávat ve formě buněčných lyzátů nebo kultivačních filtrátů, které představují stabilní a bezpečnou alternativu živých probiotik.

V této práci je pozornost věnována hodnocení účinku filtrátů a lyzátů antarktických kmenů *Lactococcus lactis* a *Leuconostoc mesenteroides* na růst patogenního mikroorganismu *Staphylococcus aureus* a dále na vybrané zástupce přirozeného kožního mikrobiomu. Screening prokázal, že filtráty vykazují silnější a selektivnější inhibiční účinek než lyzáty, přičemž nejaktivnější byly kmeny *L. lactis* P15444 a *L. mesenteroides* P16924.

Tyto filtráty byly následně testovány ve vybraných koncentracích na *Staphylococcus epidermidis*, *S. hominis*, *S. cohnii* a *Sarcina sp.* Zatímco 6% filtráty prokázaly výrazný inhibiční účinek na růst *Staphylococcus aureus*, u *S. epidermidis*, *S. hominis* a z části i *S. cohnii* naopak vedly ke zvýšení růstové aktivity, což naznačuje selektivní eubiotický efekt podporující žádoucí složky kožního mikrobiomu.

Získané výsledky představují aktuální fázi výzkumu. V budoucnu bude práce zaměřena na optimalizaci kultivačních podmínek produkčních kmenů – konkrétně dobu sklizně, kultivační teplotu, zdroj uhlíku a přídavek elicitorů biosyntézy – s cílem zvýšit produkci bioaktivních metabolitů a posílit jejich eubiotický účinek.

Vliv podmínek extrakce a technologického zpracování na obsah katechinů v čaji

Bc. Ondřej Tax

M2

doc. Ing. Irena Jarošová Ph.D.

Čaj je hned po vodě druhým nejkonzumovanějším nápojem na světě. Připravuje se z lístků rostliny *Camellia sinensis*, které jsou zdrojem mnoha bioaktivních látek. Kromě kofeinu se jedná primárně o katechiny, patřící do skupiny flavan-3-olů. U těchto látek byly pozorovány antioxidační, protizánětlivé a antidiabetické účinky. Obsah těchto látek v čaji závisí na zpracování čajových lístků, ale i na podmínkách přípravy nálevu.

V této práci byl v rámci plně faktorového plánu sledován vliv teploty (70-100 °C) a času extrakce (5-30 minut) na obsah katechinů v nálevu. Dále byl porovnáván profil katechinů v deseti tradičních druzích čaje, lišících se způsobem technologického zpracování. Ke stanovení obsahu katechinů v čajových nálevech byla zavedena UHPLC-DAD analýza. Nejvyššího obsahu katechinů bylo dosaženo při 100 °C po 25 minutách extrakce. Z testovaných čajů byl nejvyšší celkový obsah katechinů zaznamenán v bílém čaji, zatímco obsah katechinů s vysokou biologickou aktivitou byl nejvyšší v zelených čajích typu Sencha a Lung Ching. Výsledky práce prokazují významný vliv technologického zpracování a podmínek přípravy na obsah katechinů v čajovém nálevu.

Biotechnologie II

MÍSTO: A111, PRACOVNA VEDOUCÍ

KOMISE

prof. Ing. Karel Melzoch, CSc. (předseda)

Ing. Jana Michailidu, Ph. D.

Ing. Tomáš Kinčl, Ph. D.

PROGRAM

09:00 zahájení

Bc. Anna Bernatová (Mgr. 2. ročník)

Aplikace různých forem manga v průběhu studené fáze výroby piva

Bc. Diana Charanutova (Mgr. 2. ročník)

Použití AI pro zpracování multispektrálních dat rostlin

Bc. Barbora Chvátalová (Mgr. 2. ročník)

Ověření tvorby virům podobných částic viru klíšťové encefalitidy v buňkách HEK 293

Bc. Tereza Chylíková (Mgr. 2. ročník)

*Moderní biotechnologické využití *Metschnikowia pulcherrima**

Bc. Otto Jirka (Mgr. 2. ročník)

Střevní metabolom lidí z různými stravovacími návyky

Bc. Kristýna Šálková (Mgr. 2. ročník)

*Antifungální efekty lihovodných rostlinných extraktů na růst vláknitých hub *Alternaria alternata* a *Botrytis cinerea**

Bc. Matěj Tomsa (Mgr. 2. ročník)

Acid-crash u solventogenních klostridií

Bc. Eliška Turynová (Mgr. 2. ročník)

Vývoj probiotického přípravku z vedlejších produktů pivovarské výroby

Bc. Eva Vakulová (Mgr. 2. ročník)

Porovnanie technologických vlastností čerstvých a lyofilizovaných pivovarských kvasiniek

Aplikace různých forem manga v průběhu studené fáze výroby piva

Bc. Anna Bernatová

M2

Ing. Marcel Karabín, Ph.D.

S rozvojem craft brewing se začalo v pivovarství stále častěji používat ovoce, včetně tropického, i pro výrobu pivních stylů ve kterých to dříve nebylo obvyklé. Mezi nejpobulárnější a hospodářsky nejvýznamnější tropické plody využívané v pivovarství patří v současnosti mango (*Mangifera indica* L.).

Cílem práce bylo navržení a modifikace metody založené na HS-SPME-GS/MS pro identifikaci a určení zastoupení charakteristických markerů v různých formách manga (pyré, pivo s přídavkem pyré, sušené a lyofilizované). Patří mezi ně zejména terpenoidy a další těkavé látky (aldehydy, estery, alkoholy a laktony). Opakovatelnost původní metody byla akceptovatelná u tekutých vzorků (RSD 7–11 %), zatímco u suchých vzorků bylo pro dosažení hodnot RSD v rozmezí 13 až 19 % potřeba prodloužit dobu extrakce. Pyré a pivo s jeho přídavkem obsahovaly užší spektrum látek (50 sloučenin) než sušené mango (60) a nejbohatší v počtu těkavých látek bylo mango lyofilizované (69). Co do zastoupení jednotlivých frakcí byly nalezeny významné rozdíly mezi jednotlivými formami. Ve vzorcích pyré a sušeného manga převládaly terpenoidy se zastoupením 78–92 rel.%, zatímco ve vzorcích lyofilizovaného manga bylo zastoupení terpenoidů okolo 33 rel.%, a naopak se tento vzorek vyznačoval výrazně vyšším zastoupením karbonylů (také 33 rel.%).

Použití AI pro zpracování multispektrálních dat rostlin

Bc. Diana Charanutova

M2

doc. Ing. Martin Halecký, Ph.D.

Práce se zaměřuje na využití hlubokého učení, konkrétně konvolučních neuronových sítí (CNN), pro automatickou klasifikaci rostlinných druhů na základě RGB snímků pořízených multispektrální kamerou. Jako modelové organismy byly zvoleny tři druhy zeleniny: locika setá (*Lactuca sativa* L.), rajče tyčkové (*Solanum lycopersicum* L.) a okurka nakládačka (*Cucumis sativus* L.). Rostliny byly pěstovány v řízených podmínkách a následně snímány pro vytvoření dvou datových souborů: prvního určeného pro trénink neuronové sítě a druhého pro kalibraci multispektrální metodiky (např. výpočet NDVI). Pro klasifikaci byla použita předtrénovaná síť GoogLeNet upravená metodou transfer learningu a natrénovaná v prostředí MATLAB. Optimalizace hyperparametrů vedla k dosažení validační přesnosti 96,99 % a 100 % úspěšnosti na testovacích datech, což potvrzuje vysokou spolehlivost modelu. Výsledky byly doplněny vizualizacemi rozhodovacích oblastí pomocí techniky Grad-CAM a analýzou pravděpodobnostních výstupů. Studie dokládá potenciál hlubokého učení v oblasti automatizovaného rozpoznávání rostlin a naznačuje možnosti dalšího zlepšení přesnosti prostřednictvím rozšíření datové sady a detailnějšího značení vzorků.

Ověření tvorby virům podobných částic viru klíšťové encefalitidy v buňkách HEK 293

Bc. Barbora Chvátalová

prof. Dr. Ing. Michaela Rumlová

Cílem této práce bylo zkoumání a popis mechanismu sbalování viru klíšťové encefalitidy (TBEV). Pro následující experimenty bylo žádoucí navrhnout metodu, která využívá neinfekční virové částice známé jako VLP (z angl. *virus-like particles*). Tyto částice představují bezpečný modelový systém, který zachovává klíčové strukturní a funkční vlastnosti nativních virových částic, nicméně postrádá schopnost infikovat buňky a replikovat se v nich. V rámci této práce byla navržena metodika umožňující sledování interakcí C proteinu TBEV s genomovou gRNA, které vedou k tvorbě VLP. Nejdříve bylo nutné připravit vektory s mutacemi v proteinu C v oblastech s potenciálně největším vlivem na tvorbu těchto interakcí, tedy v helixech α_2 a α_4 . Pro zvýšení schopnosti detekce VLP byly vektory pro jejich produkci doplněny o značky FLAG. Následně byla po transfekci pozorována produkce VLP u buněk HEK 293. Interakce mezi C proteinem a gRNA hrají zásadní roli při skládání virové nukleokapsidy a následné tvorbě zralých virových částic. Pochopení molekulární podstaty tohoto procesu může přispět k detailnějšímu objasnění části replikačního cyklu TBEV a potenciálně otevřít cestu k návrhu nových terapeutických strategií pro léčbu klíšťové encefalitidy.

Moderní biotechnologické využití *Metschnikowia pulcherrima*

Bc. Tereza Chylíková

M2

Ing. Markéta Kulišová, Ph.D.

Současným trendem ve výrobě potravin je omezování používání chemických aditiv a konzervačních látek. Moderní biotechnologické přístupy se proto zaměřují na využití mikroorganismů schopných produkovat přirozené bioaktivní metabolity s antimikrobiálním účinkem. Jedním z perspektivních zástupců je kvasinka *Metschnikowia pulcherrima*, známá svou schopností inhibovat růst konkurenčních mikroorganismů. Tento efekt je spojen s produkcí kyseliny pulcheriminové a jejího chelátového komplexu pulcheriminu, které omezují dostupnost železa v prostředí. Cílem práce bylo zhodnotit variabilitu produkce pulcheriminových pigmentů u 30 různých kmenů *M. pulcherrima* a sledovat časový průběh jejich tvorby. Získané výsledky ukazují výrazné rozdíly v produkční aktivitě mezi jednotlivými kmeny a potvrzují časově závislý charakter tvorby pulcheriminu. Tyto poznatky přispívají k výběru vhodných kmenů pro možné biokonzervační aplikace v potravinářství.

Střevní metabolom lidí z různými stravovacími návyky

Bc. Otto Jirka

M2

doc. RNDr. Monika Cahová, Ph.D.

Složení stravy určuje složení fermentovatelných substrátů pro střevní bakterie, čímž moduluje lidský střevní metabolom. Mikrobiální fermentace složek potravy vede k tvorbě sloučenin, jenž mají dopad na lidský organismus a mohou přispívat k rozvoji onemocnění. Pochopení vlivu diety na metabolickou aktivitu střevní mikrobioty může přispět k navržení terapeutických postupů založených na ovlivnění mikrobiomu.

Cílem práce je zmapovat odlišnosti metabolomu vegetariánů a veganů od metabolomu subjektů konzumujících dietu bez speciálních omezení a identifikovat hlavní metabolity spojené s dietou. Práce je součástí studie KOMPAS zaměřené na sledování vlivu veganské stravy na zdravotní stav veganské populace.

Necílená metabolomická analýza za pomoci kapalinové chromatografie spojené s hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS) zkoumala metabolom ve stolici veganů (n=130), vegetariánů (n=66) a omnivorů (n=79), kdy skupiny obsahovaly celé rodiny stravující se charakteristickým způsobem.

Ověřil jsem jednotlivé kroky metody a prokázal, že měření poskytuje konzistentní opakovatelné výsledky. Metabolické profily jednotlivých skupin byly vyhodnoceny vhodnými biostatistickými metodami, kdy byly zjištěny signifikantní změny v některých skupinách metabolitů a zhodnocen vliv diety na složení metabolomu.

*Antifungální efekty lihovodných rostlinných extraktů na růst vláknitých hub *Alternaria alternata* a *Botrytis cinerea**

Bc. Kristýna Šálková

M3

Prof. Tomáš Brányik, PhD

Tato práce se zabývá zkoumáním 12 rostlinných lihovodných extraktů pro možné antifungální účinky na růst mycelia vláknitých hub *Alternaria alternata* a *Botrytis cinerea*, které jsou častými a nebezpečnými patogeny zemědělských plodin. Cílem této práce bylo zjistit možnosti využití testovaných rostlinných extraktů jako formy biologické ochrany proti houbovým fytopatogenům. V rámci práce byla zavedena a optimalizována metodika stanovení inhibičních vlastností rostlinných extraktů pomocí diluční metody na pevném agaru. Na základě screeningového testování byly vybrány tři extrakty s nejvyšším inhibičním účinkem na růst testovaných vláknitých hub, a to extrakt hřebíčku, lékořice a smrku. Dále byly pomocí metody pro stanovení aktivity NAD(P)H-dependentních oxidoreduktáz buněk biofilmu (MTT) zjištěny poloviční inhibiční koncentrace (IC₅₀) těchto tří nejúčinnějších extraktů pro obě testované fytopatogenní vláknité houby. Extrakt s nejnižším zjištěným IC₅₀ a tedy vykazující největší inhibiční efekt na růst mycelia testovaných vláknitých hub byl extrakt z hřebíčku (*Syzygium aromaticum*), kdy bylo IC₅₀ pro obě vláknité houby 0,2 % (v/v). IC₅₀ extraktu smrku (*Picea abies*) bylo stanoveno na 3 % (v/v) pro obě vláknité houby. IC₅₀ extraktu lékořice (*Glycyrrhiza glabra*) bylo pro *A. alternata* DBM 4004 stanoveno na 2 % (v/v) a pro *B. cinerea* UPOC-FUN-250 na 8,4 % (v/v). Tyto extrakty tak mají potenciál stát se účinnými biofungicidy při ochraně plodin proti *A. alternata* a *B. cinerea*.

Acid-crash u solventogenních klostridií

Bc. Matěj Tomsa

M2

doc. Ing. Barbora Branská, Ph. D.

Biotechnologická produkce organických rozpouštědel probíhá procesem zvaným ABE fermentace a jako hlavní produkty vznikají aceton, butanol a ethanol. Jako produkční mikroorganismus se využívají solventogenní klostridie, které fermentují sacharidy pomocí dvoufázového metabolismu. Při přechodu do druhé fáze může nastat nežádoucí jev acid-crash, který způsobuje minimální produkci rozpouštědel. V této práci bylo studováno, které kultivační podmínky ABE fermentace mohou být příčinou vzniku acid-crash. Experimenty byly prováděny s různým složením kultivačního média a také s odlišným bakteriálním inokulem. Vliv těchto faktorů byl posuzován stanovením složení produktů ABE fermentace po kultivaci, a to pomocí HPLC analýzy. Bylo vyzorováno, že zvýšená koncentrace zdroje železa snížila četnost vzniku acid-crash. Také bylo zjištěno, že tento nežádoucí jev nastal také při absenci octanu amonného v kultivačním médiu. Překvapivě, přídavek mravenčanu sodného jako možného původce acid-crash jeho výskyt nijak významně neovlivnila. Rovněž rozdílný inokulační poměr neměl příliš výrazný vliv a podobný výsledek vykazuje použití kultury o různém stáří. Následujícím postupem bude studium vlivu více kultivačních podmínek najednou.

Vývoj probiotického přípravku z vedlejších produktů pivovarské výroby

Bc. Eliška Turynová

M2

doc. Ing. Barbora Branská, Ph.D.

Pivovarský průmysl produkuje velké množství vedlejších produktů, jako jsou pivovarské mláto, odpadní kvasnice a chmelové mláto. Přestože se jedná o vedlejší produkty, jsou stále nutričně bohaté a obsahují bioaktivní látky. Jejich efektivní využití nejenže snižuje environmentální zátěž, ale také podporuje rozvoj udržitelných biotechnologických procesů. Tato práce se zaměřuje na jejich využití při vývoji probiotického preparátu založeného na bakterii *Clostridium butyricum*, která pozitivně reguluje střevní mikrobiom a tvoří odolné endospory, které jsou vhodné pro formulaci stabilního probiotického přípravku.

První fází byla optimalizace kyselé předúpravy mláta s následnou enzymatickou hydrolýzou pro dosažení efektivního uvolnění monosacharidů. Mláto zde bylo využito jako zdroj uhlíku. Připravené hydrolyzáty byly následně testovány jako kultivační média pro růst a sporulaci *C. butyricum* NBRC 13949. Další fází je testování možnosti využití autolyzátu z odpadních pivovarských kvasnic jako zdroje dusíku pro růst a sporulaci kmenů *C. butyricum* NBRC 13949 a MIYAIRI 588. Třetím krokem této práce bude stanovení obsahu celkových polyfenolů a stanovení antioxidační kapacity extraktů z chmelového mláta, které by se následně využily pro obohacení výsledného probiotického preparátu.

Porovnanie technologických vlastností čerstvých a lyofilizovaných pivovarských kvasiniek

Bc. Eva Vakulová

M2

Ing. Lukáš Jelínek, Ph.D.

Lyofilizácia, teda sušenie mrazom, patrí k moderným spôsobom šetrnej konzervácie kvasiniek určených na strednodobé skladovanie. Napriek tomu, že ide o menej stresujúci proces v porovnaní s klasickým sušením, odporúča sa lyofilizované kvasinky pred použitím rehydratovať, čo je krok v praxi často zanedbávaný. Správne prevedená rehydratácia je kľúčová pre zaistenie životaschopnosti buniek, genetickej stability a optimálnych produkčných vlastností.

Cieľom tejto práce, ktorá vznikla v rámci spolupráce s VÚPS (Výzkumný ústav pivovarský a sladařský), bolo porovnať technologické vlastnosti čerstvých, lyofilizovaných a lyofilizovaných-rehydratovaných vrchných pivovarských kvasiniek. Pre tento výskum bol zvolený novoizolovaný kmeň kvasiniek *S. cerevisiae* RIBM 192, ktorý sa vyznačuje produkciou výraznej esterovej/ovocnej arómy, stredne silných korenistých tónov a naopak nízkou produkciou diacetylu. Najskôr boli prevedené laboratórne kvasné skúšky zamerané na fermentačnú aktivitu, koncentráciu buniek a acidifikačné schopnosti. Druhá časť experimentu bola realizovaná v štvrtéprevádzkovej mierke varného procesu. Hotové pívá boli podrobené GC-MS analýze senzoricky aktívnych sekundárnych metabolitov. Ich kvalita bola taktiež hodnotená prostredníctvom profesionálneho senzorického panelu.

Ústav biochemie a mikrobiologie (320)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

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

SEZNAM SEKČÍ

1. Bakteriální rezistence
2. Bioinformatika a molekulární genetika
3. Interakce v biologických systémech
4. Klinická biologie
5. Mikrobiologie
6. Produkce a charakterizace proteinů

SPONZOŘI - ÚSTAV BIOCHEMIE A MIKROBIOLOGIE



MERCK

vesmír



Schoeller
INSTRUMENTS



Bakteriální rezistence

KOMISE:

DOC. ING. BARBORA HOLUBOVÁ, PH.D. (PŘEDSEDA)

ING. SILVIE RIMPELOVÁ, PH.D.

ING. JAN SÁCKÝ, PH.D.

ING. HANA SÝKOROVÁ, PH.D.

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

PROGRAM

09:00 zahájení

Bc. ELIŠKA HODÍKOVÁ (M2)

Příprava G+ bakteriálního modelového systému pro testování nových adjuvans pro adjuvantní antibiotickou terapii

Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Bc. JAN JANOUŠEK (M2)

Vliv flavonoidních derivátů na bakterie s mnohočetnou antibiotickou rezistencí

doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.

Bc. ŠTĚPÁNKA KÁŇOVÁ (M2)

Mechanismy a molekulární epidemiologie antibiotické rezistence k fosfomycinu

doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.

Bc. NATÁLIE KLEMENTOVÁ (M2)

Příprava bakteriálních modelů pro testování nových adjuvans pro adjuvantní antibiotickou terapii

Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

PAVEL JAN LINKA (B2)

Analýza aminoglykosid-destruktas bakterie *Acinetobacter baumannii* a jejich role v rezistenci vůči aminoglykosidovým antibiotikům

Ing. Michal Dvořák

Bc. ONDŘEJ PONCAR (M2)

Fosfoetanolamintransferasa MCR-1 jako cíl adjuvantní terapie u bakteriální kolistinové rezistence

doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.

Bc. KATEŘINA SVOZILOVÁ (M2)

Bakterie vs. rezistence: Studium vzniku rezistence *Staphylococcus aureus* k fotoinaktivaci

doc. Jaroslav Zelenka, Ph.D.

Bc. LUDMILA ŽÍDKOVÁ (M2)

Inhibitory β -laktamas jako možná cesta k adjuvantní terapii multirezistentní *Klebsiella pneumoniae*

doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.

Příprava G+ bakteriálního modelového systému pro testování nových adjuvans pro adjuvantní antibiotickou terapii

Bc. Eliška Hodíková (ročník M2)

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Narůstající výskyt antibioticky rezistentních bakteriálních kmenů zásadně omezuje možnosti léčby infekcí a představuje významnou hrozbu pro veřejné zdraví. Vývoj nových antibiotik je finančně i časově náročný a jeho přínos je často krátkodobý kvůli rychlému vzniku rezistence. Perspektivním přístupem je adjuvantní antibiotická terapie, která využívá látek bez vlastní antimikrobiální aktivity, ale schopných zvýšit účinnost dostupných antibiotik, například inhibicí mechanismů rezistence. Cílem práce je vytvořit gram-pozitivní modelový systém využívající bakterii *Staphylococcus aureus* pro testování potenciálních adjuvans. Byly připraveny různé vektory pro indukibilní a konstitutivní expresi genu rezistence *ermA* v *S.aureus* a byla testována vhodnost jejich použití. U vektoru pRMC2 *ermA* s indukovatelným promotorem P_{xyl}/tet je vysokokapacitní testování komplikováno nutností indukce anhydrotetracyklinem, jehož použití je finančně nákladné a látka je dlouhodobě nestabilní. Proto byly připraveny vektory s konstitutivní expesí genu *ermA* - pSR1051 s promotorem P_{zwf} a pSR1057 s promotorem P_{pgk}. Expese genu byla u obou vektorů potvrzena diskovou difuzní metodou a zvýšením minimální inhibiční koncentrace erythromycinu oproti kontrole, což naznačuje, že tyto vektory jsou pro náš systém vhodné.

Vliv flavonoidních derivátů na bakterie s mnohočetnou antibiotickou rezistencí

Bc. Jan Janoušek (ročník M2)

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

Bakterie si vytvořily řadu mechanismů rezistence vůči antibiotikům, jedním z nich je produkce enzymů degradujících antibiotika. Možným řešením tohoto problému je adjuvantní terapie – kombinace antibiotika s látkou inhibující tyto enzymy. Cílem této práce je zhodnotit antimikrobiální aktivitu flavonoidních derivátů a jejich adjuvantní účinky v kombinaci s β -laktamovými antibiotiky. Experimenty byly prováděny na sbírkových a klinických kmenech *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii* a *Escherichia coli*. Pomocí mikrodiluční metody byla u bakteriálních kmenů stanovena minimální inhibiční koncentrace (MIC) β -laktamových antibiotik a testovaných látek. U *S. aureus* vykazovalo 6 látek antimikrobiální účinky a 1 látka aditivní účinek v kombinaci s cefotaximem. U gramnegativních bakterií nebyl pozorován žádný účinek. Látky byly schopné inhibice β -laktamas, ale nevykazovaly adjuvantní aktivitu vůči klinickým izolátům gramnegativních bakterií, byla vyslovena hypotéza, že látky neprocházejí vnější membránou. Pro ověření této hypotézy byly připraveny geneticky modifikované bakterie *E. coli* IMP4213, které mají narušenou syntézu vnější membrány, s plasmidem nesoucím gen pro produkci vybraných β -laktamas. Následující experimenty budou zaměřeny na testování látek s využitím těchto kmenů.

Mechanismy a molekulární epidemiologie antibiotické rezistence k fosfomycinu

Bc. Štěpánka Káňová (ročník M2)

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

Fosfomycin je staronové antibiotikum běžně uplatňováno v léčbě nekomplikovaných infekcí močových cest. Tyto infekce jsou často způsobeny zástupci z řádu *Enterobacterales*, u kterých v současné době narůstá počet rezistentních kmenů. Dále je fosfomycin využíván k terapii infekcí způsobených multirezistenty, a to v kombinaci s jinými antibiotiky.

Příčiny snížené citlivosti fosfomycinu mohou být rozděleny do tří hlavních skupin – modifikace cílového místa, porucha transportu antibiotika do bakteriální buňky, a získání genů antimikrobiální rezistence. Rychlá a přesná identifikace FOS^R kmenů z řádu *Enterobacterales* je obtížná, zejména z důvodu nedostatku komerčních testů citlivosti a rychlých systémů pro detekci MIC, což rovněž stěžuje i přesné určení současné epidemiologické situace FOS^R kmenů. Cíle této práce zahrnují především celonárodní screening FOS^R kmenů, detekci FosA enzymů degradujících fosfomycin a detekci mutací cukerných transportérů.

K dosažení těchto cílů byly použity metody – agarová diluční metoda, diskový difúzní test, PCR pro detekci příslušných *fosA* podtypů a cukerný test, následně bude vykonán průkaz konjugace plasmidů, izolace genomické DNA, celogenomová sekvenace nové generace (Illumina, PacBio) a bioinformatická analýza dat.

Příprava bakteriálních modelů pro testování nových adjuvans pro adjuvantní antibiotickou terapii

Bc. Natálie Klementová (M2)

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Dle Světové zdravotnické organizace by do roku 2050 mohly infekce spojené s antibiotickou rezistencí způsobovat více úmrtí než rakovina. Nadějnou strategií ke zmírnění této prognózy je adjuvantní antibiotická terapie, která zvyšuje účinnost stávajících antibiotik prostřednictvím nízkomolekulárních látek – adjuvans – schopných inhibovat mechanismus rezistence. Pro testování nových inhibitorů jsou nezbytné vhodné bakteriální modely. V rámci této práce jsou připravovány gramnegativní (*Escherichia coli*) a grampozitivní (*Staphylococcus aureus*) systémy nesoucí gen *aph(3')-IIIa*, kódující aminoglykosid-3'-fosfotransferasu typu IIIa, zajišťující rezistenci k aminoglykosidům. U systému *E. coli* byla stanovením minimální inhibiční koncentrace potvrzena rezistence ke kanamycinu, zatímco k amikacinu, gentamicinu a tobramycinu nikoliv. Dále je připravován model *E. coli* IMP4213 s porušenou vnější membránou vlivem mutace genu *lptD*, což umožní studium vlivu membrány na vstup antibiotika a adjuvans do buňky. Pro *S. aureus* byl původně připraven vektor pro inducibilní expresi *aph(3')-IIIa*, který se však ukázal jako nevhodný, a proto je nyní zaváděn systém s konstitutivní expresí genu. Po ověření funkčnosti všech tří modelů bude hodnocena jejich využitelnost pro testování adjuvans.

Analýza aminoglykosid-destruktas bakterie Acinetobacter baumannii a jejich role v rezistenci vůči aminoglykosidovým antibiotikům

Pavel Jan Linka (B2)

Školitel: Ing. Michal Dvořák

Antibiotická rezistence je globálním problémem, který nabírá na vážnosti. Přestože se rezistentní kmeny patogenů vyskytují stále častěji, jedním z nejnebezpečnějších zůstává tzv. panrezistentní *Acinetobacter baumannii*. Tato práce se zaměřuje na studium jeho enzymově řízené rezistence vůči aminoglykosidům. Konkrétně bylo cílem práce mikrobiologicky a biochemicky charakterizovat aminoglykosid-fosfotransferasu APH(3')-Ia. Dále byly připraveny plazmidy se všemi geny rezistence k aminoglykosidům tak, aby bylo usnadněno další studium mechanismů rezistence u této bakterie, popřípadě vývoj inhibitorů konkrétních enzymů. Pro získání potřebných dat jsme využili metody konstrukce plazmidu, transformace buněk a exprese a izolace konkrétního proteinu, který byl mikrobiologicky a biochemicky analyzován. Díky těmto metodám jsme zjistili, jak konkrétní geny ovlivňují minimální inhibiční koncentraci daných antibiotik, nebo který substrát (aminoglykosid a donor fosfátu) je enzymem preferován. Dále jsme stanovili některé enzymové parametry vybraného APH(3')-Ia (K_m , k_{cat}). V budoucnosti může tato práce přispět k vývoji inhibitorů antibiotické rezistence a hlubšímu porozumění tak komplexní problematiky jakou antibiotická rezistence bezesporu je.

Fosfoetanolamintransferasa MCR-1 jako cíl adjuvantní terapie u bakteriální kolistinové rezistence

Bc. Ondřej Poncar (ročník M2)

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

Antimikrobiální rezistence představuje jednu z nejvážnějších výzev současné medicíny a podle WHO by mohla do roku 2050 způsobovat více úmrtí než onkologická onemocnění. Při léčbě infekcí způsobených multirezistentními bakteriemi se používají tzv. antibiotika poslední volby. Jedním z nich je i kolistin, jehož účinnost je ohrožena šířením mobilních genů rezistence, zejména genu *mcr-1*. Ten zprostředkovává rezistenci modifikací lipidů A, se kterým kolistin interaguje ve vnější membráně G⁻ bakterií. Cílem práce je příprava MCR-1 v aktivní formě, nalezení vhodné metody pro stanovení jeho aktivity a prověření potenciálních inhibitorů s perspektivou využití v adjuvantní terapii. MCR-1 je lokalizován v membráně a jeho purifikace zahrnuje vícekrokovou ultracentrifugaci a solubilizaci pomocí detergentů. Úprava podmínek izolace a screening účinku detergentů vedly ke zvýšení výtěžku a omezení proteolytického štěpení extracelulární domény MCR-1. Pomocí TLC bylo detekováno odštěpení fosfoethanolaminu z fluorescenčního substrátu NBD-PE. K ověření průběhu byla také použita analýza hmotnostní spektrometrií. Do budoucna bude cílem propojit všechny reakční kroky v micelárním, liposomálním či nanodiskovém systému, na němž bude možné sledovat vliv potenciálních inhibitorů.

Bakterie vs. rezistence: Studium vzniku rezistence Staphylococcus aureus k fotoinaktivaci

Bc. Kateřina Svozilová (ročník M2)

Školitel: doc. Jaroslav Zelenka, Ph.D.

Fotoinaktivace představuje perspektivní alternativu k tradičním dezinfekčním metodám. Díky mechanismu účinku, který spočívá ve vyvolání vysoké hladiny reaktivních forem kyslíku napadajících současně více cílů v buňce, je tato metoda oceňována především pro svou širokospektrální účinnost a dosud nepotvrzené riziko vzniku rezistence. Přesto však existuje potřeba ověřit, zda opakovaná expozice fotosenzitizátorům nemůže vést k adaptaci mikroorganismů. Tato studie se zaměřila na hodnocení potenciální rezistence *Staphylococcus aureus* po opakované expozici dvěma fotosenzitizátorům – methylenové modří a molybdenovému klastru s azidovými ligandy. Planktonické bakteriální kultury byly podrobeny opakovaným cyklům fotoinaktivace a následně analyzovány z hlediska změn citlivosti. Výsledky prokázaly, že opakovaná krátkodobá expozice nevedla ke zvýšení rezistence vůči fotoinaktivaci. Současně byl zaznamenán rozdíl v účinnosti molybdenového klastru v závislosti na použitém prostředí, přičemž fosfátový pufr významně zvyšoval jeho efektivitu oproti destilované vodě. Tyto výsledky přispívají k lepšímu pochopení mechanismů fotoinaktivace a k optimalizaci podmínek, které minimalizují riziko selekce rezistentních kmenů.

*Inhibitory β -laktamas jako možná cesta k adjuvantní terapii multirezistentní *Klebsiella pneumoniae**

Bc. Ludmila Žídková (ročník, M2)

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

Terapie infekcí vyvolaných bakterií *Klebsiella pneumoniae* je komplikovaná kvůli vysoké rezistenci tohoto patogenu vůči β -laktamovým antibiotikům. Rezistenci nejčastěji způsobují β -laktamasy, enzymy hydrolyzující β -laktamový kruh antibiotik, což způsobuje ztrátu účinku antibiotik. Nová, účinnější antibiotika se na trhu prakticky nevyskytují, proto je potřeba hledat alternativní cesty pro léčbu rezistentních infekcí. Z těch se nabízí například adjuvantní terapie – koadministrace antibiotika s inhibítozem rezistence. Cílem práce bylo najít účinné inhibitory β -laktamasové aktivity všech čtyř strukturně rozdílných tříd β -laktamas. Geny tří β -laktamas z *K. pneumoniae* byly klonovány do plazmidu pGDP1 a vneseny do bakterie *Escherichia coli*. Enzymy KPC-3, OXA-48 a NDM-1 byly úspěšně rekombinantně produkovány a purifikovány. U získaných enzymů byly stanoveny kinetické parametry a byl popsán vliv dvou sad látek - potenciálních inhibitorů β -laktamasové aktivity. Látky SPIC1, SPIC2 a SPIC3 snižovaly aktivitu všech tří enzymů. Látky VM40 a VM42 byly účinné vůči všem testovaným třídám, ale kvůli nízké biodostupnosti nebyly účinné na živých systémech. Práce odhalila nové inhibitory β -laktamas a přispěla k rozvoji adjuvantní terapie multirezistentních kmenů bakterií.

Bioinformatika a molekulární genetik

KOMISE:

DOC. ING. HANA STIBOROVÁ, PH.D. (PŘESEDÁ)

ING. BARBORA SVOBODOVÁ, PH.D.

ING. JIŘÍ ŠANTRŮČEK, PH.D.

ING. VÁCLAV PEROUTKA

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

PROGRAM

09:00 zahájení

BC. KLÁRA BLAHOUTOVÁ (M2)

Identifikace vazebného místa pro buněčnou helikasu DHX15 v genomu Masonova-Pfizerova opičího viru

prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

BC. ANTONÍN DUŠEK (M2)

Predikce krystalových struktur proteinů pomocí moderních metod strojového učení

prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.

BC. ARNAU FERNANDEZ GENERÓ (M2)

Aminopeptidase N from *Schistosoma mansoni* eggs: a potential mediator of host-parasite interaction

prof. Ing. Vojtěch Spiwok, Ph.D.

BC. KAMILA KLEMENTOVÁ (M2)

Vývoj a ověření multiplexní RT-qPCR pro detekci a kvantifikaci rotavirů ve vodách

Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Bc. ELKHAN MALMANOV (M2)

Návrh stabilních variant asparaginas pomocí umělého promíchávání genů
prof. Ing. Vojtěch Spiwok, PhD.

Bc. JANA STEINBAUEROVÁ (M2)

Identifikace genů zodpovědných za transport a redukci arsenu v hubách rodu
Hebeloma
Ing. Jan Sácký, Ph.D

Bc. MAX ŠTĚTINA (M2)

Protein design for safer cancer therapy
Ing. Eva Benešová, Ph.D.

Identifikace vazebného místa pro buněčnou helikasu DHX15 v genomu Masonova-Pfizerova opičího viru

Bc. Klára Blahoutová (ročník M2)

Školitel: prof. Ing. Tomáš Ruml, CSc.

DHX15 je buněčná RNA helikasa, která hraje důležitou roli v mnoha buněčných procesech. Její aktivita a substrátová specifita je regulována proteinovými aktivátory, v jejichž struktuře se vyskytují oblasti bohaté na glycinová rezidua, tzv. G-patch motivy. Tyto oblasti vykazují napříč organismy podobnosti jak v primární, tak v sekundární struktuře. Proteiny obsahující G-patch motiv byly identifikovány i v polyproteinových prekursorech Gag-Pro a Gag-Pro-Pol Masonova-Pfizerova opičího viru (M-PMV), jehož G-patch je schopná interagovat s buněčnou helikasou DHX15 a prostřednictvím této interakce helikasu aktivovat. Pomocí PAR-CLIP analýzy bylo předpovězeno potenciální místo vazby helikasy DHX15 na 3' konci genomu M-PMV. Součástí této oblasti je tzv. konstitutivní transportní element (CTE), vlásenková struktura nezbytná pro export nesestřižené virové RNA z jádra do cytoplasmy. Pro potvrzení a následné upřesnění místa interakce bylo navrženo několik mutací v cílové oblasti genomu M-PMV. Interakce mezi helikasou DHX15 a genomem M-PMV byla studována pomocí termoforézy na mikroškále.

Predikce krystalových struktur proteinů pomocí moderních metod strojového učení

Bc. Antonín Dušek (ročník M2)

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

Predikce krystalového uspořádání proteinů představuje významnou výzvu pro strukturální biologii a výzkum materiálů. Tato práce se zaměřuje na využití proteinových jazykových modelů, konkrétně ESM (Evolutionary Scale Modeling), k predikci charakteru proteinových krystalů. Tyto modely umožňují zachytit vztahy a kontext mezi sekvencí a strukturou. Cílem je ověřit, zda lze pomocí latentních reprezentací z jazykových modelů předpovídat mezimolekulární kontakty a možné krystalové formy. Tento přístup by mohl zjednodušit určování proteinových struktur pomocí krystalografie, hledání vhodných krystalových struktur a otevřít nové možnosti pro racionální design proteinových krystalů využitelných například ve vývoji léčiv nebo designu funkčních proteinových materiálů.

Aminopeptidase N from Schistosoma mansoni eggs: a potential mediator of host-parasite interaction

Bc. Arnau Fernandez Generó (ročník M2)

Školitel: prof. Ing. Vojtěch Spiwok, PhD.

Schistosoma mansoni is a fluke parasite that causes schistosomiasis, a disease with an estimated global annual death toll of 200,000 people. Its eggs are laid in the bloodstream of mammalian hosts, from where they migrate through the intestinal wall to the lumen by releasing molecules that induce inflammatory processes. These excretory/secretory products are crucial for egg passage and pathology, but their specific roles and molecular compositions are not fully understood. Building on previous transcriptomic and biochemical analyses, we identified a zinc-dependent metalloprotease, an ortholog of human aminopeptidase N (APN), predominantly expressed in immature eggs within the endothelial tissue of the vasculature, suggesting a role in egg migration. We successfully expressed recombinant SmAPN in HEK cells, purified the protein, and characterized its proteolytic activity. Furthermore, we investigated SmAPN's substrate specificity through systematic structure predictions of enzyme-peptide complexes using ESMFold. Ongoing studies employing peptide libraries, immunolocalization, and further computational analyses aim to elucidate its substrate specificity, biological role, and potential as a therapeutic target.

Vývoj a ověření multiplexní RT-qPCR pro detekci a kvantifikaci rotavirů ve vodách

Bc. Kamila Klementová (ročník M2)

Školitel: Ing. Kamila Zdeňková, Ph.D.

Epidemiologie založená na odpadních vodách využívá biomarkery ke sledování trendů infekcí v komunitách a k varování před vznikem epidemie. Detekce a kvantifikace virů může sloužit i k hodnocení procesů úprav vody a rizik přenosu nemocí. Rotaviry jsou patogenní viry způsobující akutní gastroenteritidy a představují vhodné markery pro monitoring ve vodních systémech. Cílem práce byl vývoj rychlé a citlivé multiplexní RT-qPCR metody pro sledování RNA rotavirů především séroskupiny A. V rámci řešení byla navržena syntetická sekvence dsDNA určená jako kontrolní a standardní materiál pro vyvíjenou metodu. Dále byla sledována její stabilita v roztocích s cílem zajistit přesnou kvantifikaci. Následně bylo pomocí standardů a reálných vzorků provedeno testování konfigurací multiplexních reakcí zaměřených na detekci rotavirů, včetně testování avirulentních částic Rotaviru A. Dále byl navržen multiplexní systém pro paralelní detekci a kvantifikaci i ostatních séroskupin lidských rotavirů. Aplikace vyvinutých protokolů na vzorky odpadních vod, potvrdila jejich funkčnost a umožnila detekci rotavirů i dalších markerů, jako jsou například noroviry. Vzhledem k nízkým koncentracím rotavirů ve vzorcích bude práce směřovat k vypracování a ověření dPCR pro stanovení absolutní koncentrace.

Návrh stabilních variant asparaginas pomocí umělého promíchávání genů

Bc. Elkhan Malmanov (ročník M2)

Školitel: prof. Ing. Vojtěch Spiwok, PhD.

Stabilita enzymů představuje klíčový faktor pro jejich biotechnologické a medicínské využití. L-Asparaginasa je terapeuticky významný enzym využívaný především při léčbě akutní lymfoblastické leukémie (ALL) a zároveň nachází uplatnění v potravinářství pro snižování obsahu akrylamidu. Cílem této práce bylo navrhnout stabilnější varianty asparaginas pomocí metod enzymového inženýrství s využitím umělého promíchávání genů (gene shuffling) a moderních nástrojů strojového učení. Pomocí BLAST analýzy byly identifikovány příbuzné sekvence vycházející z *E. coli* asparaginas, pro které byla provedena predikce oligomerizace pomocí modelu AlphaFold-Multimer. Následně byly tyto sekvence podrobeny virtuálnímu genovému shufflingu a predikci prostorové struktury pomocí modelu ESMFold. Celkově bylo vytvořeno a analyzováno více než 50 000 variant, jejichž stabilita byla hodnocena pomocí metrik pLDDT a ΔG . Výsledky ukazují, že kombinace *in silico* shufflingu a prediktivního modelování představuje efektivní přístup k návrhu stabilnějších enzymů. Na základě provedených analýz byly vybrány varianty enzymu určené pro experimentální validaci a podrobnější biochemickou charakterizaci.

Identifikace genů zodpovědných za transport a redukci arsenu v hubách rodu *Hebeloma*

Bc. Jana Steinbauerová (ročník M2)

Školitel: Ing. Jan Sácký, Ph.D

V houbách se přirozeně vyskytuje určité množství arsenu (As) v různých formách, přičemž některé houby jsou dokonce schopné arsen hyperakumulovat. Arsen je toxický prvek, a proto si houby musely vyvinout různé mechanismy pro jeho detoxikaci. Bylo zjištěno, že houby redukují pětimocný As(V) na trojmocný As(III), který následně podléhá methylaci nebo je exportován ven z buňky. V této práci jsme se zaměřili na izolaci a identifikaci genů kódující arsenové transportéry rodiny ArsB a ACR3 a na geny kódující arsenátreduktasu u hub rodu *Hebeloma*. Ačkoli se gen *ArsB* v genomech hub rodu *Hebeloma* vyskytuje, pravděpodobně kóduje neaktivní protein. Naproti tomu bylo zjištěno, že gen *ACR3* u některých hub rodu *Hebeloma* aktivně zajišťuje export akumulovaného anorganického arsenu As(III). Analýza pomocí qPCR odhalila silnou indukovatelnost genu *HmACR3* v myceliích *Hebeloma mesophaeum* vystaveném anorganickému arsenu, což zdůrazňuje význam tohoto transportéru při detoxikaci arsenu. Nicméně funkci tohoto transportéru bude potřeba ještě potvrdit v kvasinkovém modelu. Dále byly získány dvě domnělé sekvence pro arsenátreduktasu, přičemž se zdá že jedna z nich je nefunkční, a s druhou budou prováděny další studie pro potvrzení její funkce v redukci As.

Protein design for safer cancer therapy

Bc. Max Štětina (ročník M2)

Školitel: Ing. Eva Benešová, Ph.D.

The ability of L-asparaginases to cleave L-asparagine has proven effective in the treatment of acute lymphoblastic leukaemia over many decades. However, currently available therapeutic L-asparaginases are large tetrameric enzymes of bacterial origin, which frequently cause severe side effects including strong allergic reactions, fever, and nausea. Even in patients who tolerate treatment without overt symptoms, therapeutic efficacy can be quickly compromised by silent inactivation through antibody formation. L-Asparaginases have also demonstrated significant potential for treating other malignancies, but their clinical application has been limited due to poor tolerability in older patient populations. Here, we leverage the recent advances in computational protein design to engineer a novel L-asparaginase that is stable, soluble, monomeric, and highly active, with reduced immunogenicity. This engineered enzyme would offer improved efficacy and safety compared to current preparations, potentially expanding therapeutic applications to cancers that are currently challenging to treat.

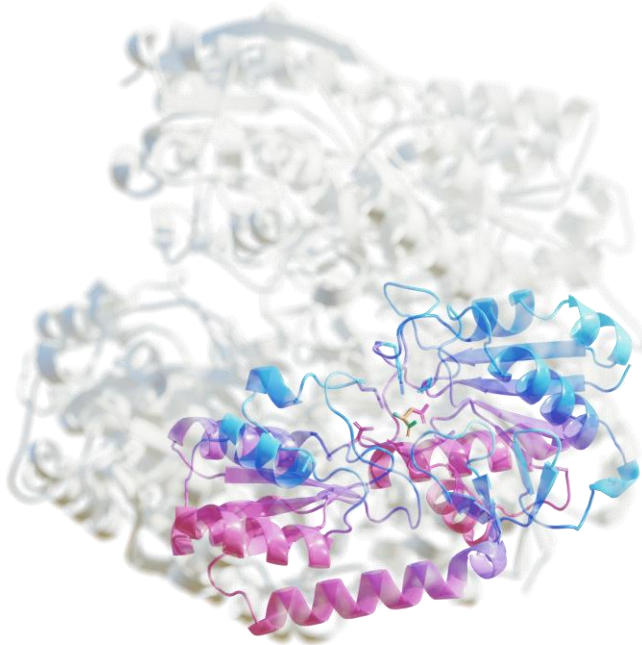


Fig.: Wild-type tetrameric (back) and engineered monomeric (front) L-asparaginase

Interakce v biologických systémech

KOMISE:

DOC. ING. PETRA LOVECKÁ, PH.D. (PŘEDSEDA)

ING. EVA BENEŠOVÁ, PH.D.

ING. EVA JABLONSKÁ, PH.D.

ING. JAN BERÁNEK

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

PROGRAM

09:00 zahájení

BC. MARKÉTA BAROŇOVÁ (M2)

Vliv meziproductů syntézy žlučových kyselin na transkripci receptoru pro hormon štítné žlázy (THR)

doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D., Ing. Kateřina Žížalová, Ph.D.

BC. LOLA FÜLLOVÁ (M2)

Příprava fluorescenčního senzoru pro vizualizaci cytosolického a extracelulárního ATP

Ing. Jiřina Kroupová, Ph.D.; MUDr. Zdeněk Hodný, CSc.; doc. Ing. Vojtěch Škop, Ph.D.; Mgr. Josef Novák, Ph.D.

BC. TEREZA HALAMOVÁ (M2)

Allosterická modulace opioidních receptorů neurosteroidy

Mgr. Jan Jakubík Ph.D., doc. Ing. Jitka Viktorová Ph.D.

BC. ONDŘEJ HOFMAN (M2)

Sestavení imunochromatografického testu pro detekci HHC ve slinách

doc. Ing. Barbora Holubová Ph.D.

Bc. KLÁRA MANSFELDOVÁ (M2)

Role endogenní produkce a suplementace sulfanu ve fyziologii myších spermií

doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.

Bc. ŠIMON PILLER (M2)

Jak vzniká aeruginascin?

Ing. Tereza Leonhardt, Ph.D.

Bc. TEREZA RESSELOVÁ (M2)

Sledování vlivu zinečnatých iontů a složení kultivačního média na proteom osteoblastických buněčných linií

Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.

Bc. NICOLE ŠMÍDOVÁ (M2)

Barevné spektrum ovlivňuje cytokininy v rýži

doc. Dr. Ing. Zuzana Novotná

Vliv meziproduktů syntézy žlučových kyselin na transkripci receptoru pro hormon štítné žlázy (THR)

Bc. Markéta Baroňová (ročník M2)

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

Konzultantka: Ing. Kateřina Žížalová, Ph.D.

Žlučové kyseliny (ŽK) jsou syntetizovány v játrech z cholesterolu dvěma drahami – klasickou a alternativní. U jaterních onemocnění, jako je cirhóza nebo MASLD, se zvyšuje aktivita alternativní dráhy, čímž stoupají koncentrace jejích meziproduktů v plasmě. Cílem této práce bylo zjistit, zda tyto meziprodukty samy ovlivňují jaderné receptory, zejména receptor pro hormon štítné žlázy (THR). Jaterní buňky HepG2 byly inkubovány s kyselinou cholestenovou (CHA, meziprodukt alternativní dráhy) a 7 α -hydroxy-4-cholesten-3-onem (C4, meziprodukt klasické dráhy) v koncentracích 1 a 10 μ M po dobu 2 hodin. Následně byla izolována RNA, připravena cDNA a stanovena relativní exprese genů pomocí qPCR. Výsledky ukázaly, že CHA významně snižuje expresi THR β u 1 μ M o 68 % a u 10 μ M o 75 % oproti kontrole s DMSO, zatímco C4 tento efekt nevyvolává a naopak při vyšší koncentraci 10 μ M C4 relativní expresi THR zvyšuje o 80% oproti kontrole s DMSO. Tyto poznatky naznačují, že meziprodukty alternativní dráhy syntézy ŽK mohou ovlivňovat transkripční aktivitu receptorů pro hormon štítné žlázy a tím i průběh metabolických jaterních onemocnění. Další část práce bude zaměřena na luciferázovou esej k potvrzení vlivu CHA a C4 na transkripční aktivitu THR a dalších jaderných receptorů.

Příprava fluorescenčního senzoru pro vizualizaci cytosolického a extracelulárního ATP

Bc. Lola Füllová (ročník M2)

Školitel: Ing. Jiřina Kroupová, Ph.D.; MUDr. Zdeněk Hodný, CSc.;
doc. Ing. Vojtěch Škop, Ph.D.; Mgr. Josef Novák, Ph.D.

Glioblastom je pro svou agresivitu často spojen se vznikem sekundárních nádorových ložisek, metastáz. Studie ukazují, že významnou roli v tumorigenezi a nádorové proliferaci hraje adenosintrifosfát (ATP). Cílem mého výzkumu je pomocí fluorescenčního senzoru pozorovat energetické změny buněk při jejich migraci z glioblastomového sféroиду. Pro vizualizaci změn energie jsem použila fluorescenčně značený ATP senzor cyto-Ruby3-iATPSnFR1.0, který byl naklonován do vektoru pCDH-CMV-MCS-EF1-Neo a pomocí lentivirů úspěšně transdukován do cílové linie glioblastomových buněk U-87 MG. Funkčnost fluorescenčního systému byla ověřena mikroskopicky. Po ošetření buněk látkami blokujícími tvorbu ATP a glykolýzu se však intenzita fluorescence nezměnila. Další experimenty proto probíhaly pomocí průtokové cytometrie, která umožňuje měřit fluorescenční signál jednotlivých buněk. Při těchto měřeních byl již pokles fluorescence u buněk s nedostatkem ATP významný. Celkově výsledky naznačují, že ATP senzor se nejlépe uplatní při zkoumání jednotlivých buněk, zatímco pro sledování jejich migrace se příliš neosvědčil.

Allosterická modulace opioidních receptorů neurosteroidy

Bc. Tereza Halamová (ročník M2)

Školitel: Mgr. Jan Jakubík Ph.D., doc. Ing. Jitka Viktorová Ph.D.

Opioidní receptory (OR) hrají zásadní roli při nocicepci a jsou hlavním cílem opioidních analgetik. Při dlouhodobém užívání těchto léčiv však vzniká tolerance, fyzická závislost a další nežádoucí účinky. Teoreticky, pozitivní allosterická modulace (PAM) endogenních opioidů může opioidní analgetika nahradit. Na zvířecích modelech neuropatické bolesti bylo ukázáno, že analgetický účinek neurosteroidu MS-225 je zprostředkován, mimo jiné, prostřednictvím OR, což naznačuje, že MS-225 je PAM. Tato práce studuje ovlivnění funkční odpovědi OR MS-225 *in vitro* s cílem přiblížit mechanismus allosterické modulace OR. Experimenty provádíme na membránách Sf9 buněk exprimujících G-protein $G_{\alpha A}$ a jednotlivé podtypy OR pomocí baculovirového expresního systému. Připravili jsme μ OR a δ OR homomery a μ OR- δ OR heteromery. Funkční odpověď měříme jako vazbu [35 S]GTP γ S ke G-proteinům stimulovanou endogenními opioidy (endomorfínem I nebo Leu-enkefalinem) nebo agonistou specifickým pro heterodimery (CYM51010). MS-225 testujeme v koncentracích 1 μ M a 100 nM. Křivky závislosti funkční odpovědi na logaritmu koncentrace agonisty potvrzují PAM účinek MS-225 na μ OR, a tedy správnou funkci připraveného systému. Systém je vhodný pro další studium mechanismu účinku MS-225 a pro testování dalších neurosteroidů.

Sestavení imunochromatografického testu pro detekci HHC ve slinách

Bc. Hofman Ondřej (ročník M2)

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

Hexahydrokanabinol (HHC) je semi-syntetická látka vznikající hydrogenací tetrahydrokanabinolu (THC). Uživateli způsobuje euforii, změny vnímání, ospalost, ale i kardiovaskulární problémy a může mít též negativní vliv na duševní zdraví. V poslední době jeho popularita roste a z tohoto důvodu je potřeba vyvinout metodu, která by umožnila rychle a jednoznačně potvrdit, zda testovaná osoba požíla látky obsahující HHC. Cílem projektu je vytvořit imunochromatografický test v nepřímém kompetitivním formátu, který bude přizpůsoben pro matrici slin a umožní spolehlivou, ekonomicky dostupnou a rychlou detekci HHC v terénních podmínkách. Při vývoji testu byly využity jak komerčně dostupné, tak i námi připravené imunoreagencie, konkrétně konjugáty THC-BSA a HHC-BSA, protilátky proti THC a HHC a sekundární protilátka značená koloidním zlatem. V rámci dosud provedených experimentů byly určeny vhodné kombinace a množství jednotlivých imunoreagencií, přičemž byl stanoven vizuálně detekční limit analytu HHC, který se pohybuje v řádu desítek ng ml^{-1} .

Role endogenní produkce a suplementace sulfanu ve fyziologii myších spermií

Bc. Klára Mansfeldová (ročník M2)

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

Sulfan je plynná signální molekula, která je fyziologicky produkována enzymy cystathionin β -syntázou, cystathionin γ -lyázou a 3-merkaptopyruvát-sulfurtransferázou. Sulfan ovlivňuje buněčnou fyziologii persulfidací proteinů. Jedná se o posttranslační modifikaci ovlivňující funkci proteinů, ale slouží také jako ochrana před jejich nevratnou hyperoxidací. Předpokládáme, že ošetření izolovaných myších spermií donorem sulfanu (NaHS) vede ke specifické persulfidaci, která bude lokalizována na cysteinových zbytcích funkčně důležitých proteinů. Do experimentu budou zařazeni samci laboratorní myši kmene C57BL6. Cílem je po ošetření spermií elektroforeticky separovat proteiny a identifikovat ty, které podléhají persulfidaci. Bude provedena komplexní proteomická analýza. Tato práce povede k lepšímu pochopení buněčné signalizace způsobené posttranslační modifikací cysteinů, a její nezbytnosti pro oplození schopnost spermií. Poznatky rozšíří povědomí o možnosti suplementace H_2S v podmínkách *in vitro* a jeho protektivním vlivu na gamety používané v reprodukční medicíně.

Jak vzniká aeruginascin?

Bc. Šimon Piller (ročník M2)

Školitel: Ing. Tereza Leonhardt, Ph.D.

Aeruginascin je indolový alkaloid přirozeně se vyskytující v plodnicích některých druhů hub rodu *Psilocybe*. Jedná se o trimethylovaný analog psilocybinu, o němž se předpokládá, že přispívá k tzv. entourage efektu a moduluje halucinogenní účinky těchto hub, které jsou v současnosti intenzivně studovány v souvislosti s vývojem terapií na léčení deprese, úzkosti a posttraumatické stresové poruchy (PTSD). Jedním z kroků biosyntézy psilocybinu je methylace aminové skupiny na terciární amin. Tuto reakci katalyzuje methyltransferasa PsiM, o níž se předpokládá, že se podílí také na tvorbě aeruginascinu. Tato hypotéza byla potvrzena v heterologním expresním systému *E. coli*, nikoli však při *in vitro* enzymatické studii. Zůstává otázkou, zda některé ortology PsiM z různých druhů *Psilocybe* jsou skutečně schopné tvořit aeruginascin. Tato práce se zaměřuje na ověření uvedené hypotézy prostřednictvím heterologní exprese genu *psiM* z *Psilocybe cubensis* a *Psilocybe serbica* v systémech *S. cerevisiae* a *E. coli* a studiem aktivity purifikovaného enzymu. Farmaceutický potenciál aeruginascinu je čím dál více zřetelný a odhalení jeho biosyntetické dráhy by nejen položilo základ pro jeho biotechnologickou produkci, ale zároveň přispělo k většímu porozumění komplexního metabolismu indolových alkaloidů.

Sledování vlivu zinečnatých iontů a složení kultivačního média na proteom osteoblastických buněčných linií

Bc. Tereza Resselová (ročník M2)

Školitel: Ing. Jiří Šantrůček, Ph.D.

Biodegradovatelné materiály se jeví jako perspektivní materiály k výrobě pomůcek (např. šroubů dočasně spojujících kosti), které by se v těle pacienta postupně rozkládaly. Díky tomu by se u těchto pacientů nemuselo řešit vyjmutí takové dočasné náhrady a zabránilo by se tak možné sekundární infekci. Pokud by se ale biomateriál rozkládal v těle, je nutné nejprve ověřit, zda by látky vznikající při rozkladu nemohly pacientovi škodit. Vzhledem k tomu, že zinek je snadno dostupný, snadno tvarovatelný, a navíc schopný pasivace, uvažuje se nad jeho využitím při výrobě těchto materiálů. Tato studie se zabývá sledováním toxického působení zinečnatých iontů na proteom osteoblastických buněčných linií Saos-2 a hFOB 1.19. Buněčná linie Saos-2 je odvozená od osteosarkomu a představuje fenotyp zralých osteoblastů schopných tvorby extracelulární matrix, zatímco buněčná linie hFOB 1.19 se používá pro studium normální diferenciaci. Vedle vlivu zinečnatých iontů byl sledován i vliv různých kultivačních médií na proteom zmíněných buněčných linií.

Barevné spektrum ovlivňuje cytokininy v rýži

Bc. Nicole Šmídová (ročník M2)

Školitel: doc. Dr. Ing. Zuzana Novotná

Předložená práce zkoumá vliv specifických světelných spekter na biometrické a hormonální parametry modelového druhu rýže (*Oryza sativa*, odrůda Kitaake). Světlo je klíčový signál regulující genovou expresi, hormonální signalizaci a morfogenezi prostřednictvím specifických fotoreceptorů. Cytokininy (CK), jako jsou trans-zeatin (tZ) a isopentenyladenin (iP), jsou rostlinné hormony syntetizované IPT a LOG enzymy a degradovány UGT a CKX enzymy. Cílem bylo zjistit vliv barevného světelného spektra (modré, červené, kombinované modro-červené, zelené) na růst (délka/hmotnost) kořene a nadzemní části a stanovit hladiny cytokininů pomocí HPLC-MS/MS. Výsledky ukázaly, že modré světlo vede k menšímu vzrůstu, zatímco červené světlo podporuje růst nadzemní části. Kombinace modrého a červeného světla nejvíc stimuluje růst nadzemní části. Budoucí práce zahrnuje analýzu genové exprese pomocí RNA-sekvenování a ověření výsledků analýzy pomocí qPCR, s cílem detailně propojit světelnou signalizaci s hladinami cytokininů a transkriptomickými změnami.

Klinická biochemie

KOMISE:

DOC. ING. VOJTĚCH ŠKOP, PH.D. (PŘEDSEDA)

DOC. ING. JAN LIPOV, PH.D.

ING. TOMÁŠ PODZIMEK, PH.D.

ING. MARKÉTA ČASTORÁLOVÁ, PH.D.

ING. JAN BERÁNEK

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

PROGRAM

09:00 zahájení

Bc. JITKA FRÜHBAUEROVÁ (M2)

Detekce markerů celiakie u dětských pacientů s kardiologickým onemocněním
doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.; doc. MUDr. Markéta Bloomfield, Ph.D.

Bc. KATEŘINA KUBÁKOVÁ (M2)

Příprava sféroidů melanomu kůže pro testování léčiv modulujících nádorovou
rezistenci
doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.

Bc. ADÉLA MAZÁČOVÁ (M2)

Biochemické markery u pacientů s akutním koronárním syndromem a mrtvicí
doc. Ing. Mgr. Štěpánka Kučková, Ph.D.

Bc. IVANA SEMANOVÁ (M2)

Autofágie a ER stres: Krížová komunikácia v patológii pečene
MUDr. Ivan Šebesta, CSc.

Bc. DANIELA SEMLEROVÁ (M2)

Analýza potenciálních negativních vlivů fototerapie při léčbě novorozenecké žloutenky

RNDr. Aleš Dvořák, Ph.D.

Bc. TEREZA SKLENÁŘOVÁ (M2)

Sledování funkčních a morfologických vlastností fibrinových sítí u vybraných pacientů s koagulopatiemi a u gravidních žen

doc. Mgr. Ing. Bc. Roman Kotlín, Ph.D., MHA

Bc. RICHARD ZAHRADNÍČEK (M2)

Zavedení modelu in vitro pro sledování zánětlivých procesů ve střevní bariéře

doc. Ing. Jitka Viktorová, Ph.D.

Detekce markerů celiakie u dětských pacientů s kardiologickým onemocněním

Bc. Jitka Frühbauerová (ročník M2)

Školitel: doc. Ing. Jaroslav Zelenka, Ph.D.;
doc. MUDr. Markéta Bloomfield, Ph.D.

Cílem této studie je detekovat markery celiakie u pediatrických pacientů s vrozenou srdeční vadou před jejich chirurgickým zákrokem. Hodnoceny jsou hladiny celkových imunoglobulinů IgG a IgA, měřené nefelometricky, a dále protilátky proti transglutamináze ve třídách IgG a IgA stanovené metodou ELISA. Výsledky ukazují, že všichni pacienti mají hladiny protilátek proti transglutamináze ve třídě IgA v rozmezí 0,42-0,97 U/ml, což odpovídá negativním markerům celiakie před operací. Naopak u deseti pacientů byly zaznamenány pozitivní hodnoty aTRG ve třídě IgG, což by mohlo naznačovat, že si pacienti vytvořili protilátky proti transglutamináze exprimované v srdeční svalovině.

Příprava sféroidů melanomu kůže pro testování léčiv modulujících nádorovou rezistenci

Bc. Kateřina Kubáková (ročník M2)

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

Mnohočetná léková rezistence je závažným problémem v onkologii, často způsobený nadměrnou expresí efluxních pump (např. P-gp, BCRP, MRP1), které transportují léčiva z buňky a snižují jejich účinnost. Jejich vliv na nádorovou rezistenci lze studovat pomocí buněčných modelů. Sféroidy, trojrozměrné (3D) kultury buněk, věrně napodobují podmínky nádorů *in vivo* a jsou vhodné pro testování léčiv. Efektivní terapie melanomu, nejagresivnějšího kožního nádoru, zůstává díky rezistencím stále velkou výzvou. Tato práce se zaměřuje na přípravu stabilní melanomové linie se zvýšenou expresí genů efluxních pump, transdukovanou pomocí lentivirového systému a tvorbu homo- i heterotypických sféroidů mimikujících nádorové mikroprostředí. Na takto připravené sféroidy jsou následně aplikována vhodná terapeutika. Sféroidy jsou tvořeny melanomovými buňkami, keratinocyty a dermálními fibroblasty kultivovanými v nízkopřilnavých destičkách. Viabilita buněk po aplikaci léčiv se hodnotí resazurinem nebo bioluminiscenční analýzou. V práci byla úspěšně zavedena metoda přípravy homo- i heterotypických sféroidů. Účinky vemurafenibu a doxorubicinu byly vyjádřeny hodnotou EC_{50} a porovnány mezi 2D a 3D kulturami. Výsledky přispívají k vývoji účinnější terapie melanomu a pochopení mechanismů lékové rezistence.

Biochemické markery u pacientů s akutním koronárním syndromem a mrtvicí

Bc. Adéla Mazáčová (ročník M2)

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

Ateroskleróza a její závažné následky především akutní koronární syndrom (AKS) a cévní mozková příhoda (CMP), představují celosvětově dominantní příčinu morbidity a mortality. Přesná a včasná laboratorní diagnostika je proto klíčová. Cílem této práce bylo identifikovat a porovnat sérové profily vybraných proteinů u pacientů s těmito diagnózami a hledat pro ně potenciální specifické biomarkery. Studie zahrnovala tři skupiny: pacienty s AKS, pacienty po CMP a kontrolní skupinu zdravých osob. U všech vzorků krevního séra byla stanovena koncentrace 10 potenciálních biomarkerů spojených s procesem aterosklerózy pomocí metody Human Luminex® Discovery Assay. Paralelně byla změřena hladina C-reaktivního proteinu pomocí vysoce senzitivní metody hsCRP ELISA, jakožto zavedeného markeru zánětu. Získaná data o koncentracích jednotlivých proteinů byla statisticky zpracována a porovnána mezi všemi třemi skupinami. Byly hledány signifikantní rozdíly, které by mohly odlišit pacienty od zdravých kontrol, ale také potenciální rozdíly mezi skupinami AKS a CMP. Výsledky této práce by mohly přispět k identifikaci nových kandidátních biomarkerů využitelných v laboratorní diagnostice aterosklerotických příhod.

Autofágia a ER stres: Krížová komunikácia v patológii pečene

Bc. Ivana Semanová (ročník M2)

Školiteľ: MUDr. Ivan Šebesta, CSc.

Ochorenia pečene predstavujú jednu z najzávažnejších príčin chronickej morbidity a mortality. Nealkoholová steatóza pečene patrí medzi metabolické ochorenia a v dnešnej dobe sa označuje ako „epidémia modernej doby“. Naopak, deficit α_1 -antitrypsínu je zriedkavé geneticky podmienené ochorenie, no poskytuje jedinečný model na štúdium mechanizmov bunkového stresu. Spoločným znakom je aktivácia autofágie a stresu endoplazmatického retikula (ER stres), ktoré sa podieľajú na udržiavaní bunkovej homeostázy. Ich presná úloha, miera aktivácie a vzájomná interakcia však ostávajú neúplne objasnené, najmä pri súčasnom výskyte oboch ochorení. Cieľom práce je porovnať prejavy autofágie a ER stresu v bunkových modeloch steatózy, deficitu α_1 -antitrypsínu a ich kombinácie. Práca sa zameriava na hodnotenie molekulárnych markerov autofágie (LC3, ATG7, ATG14) a ER stresu (BiP, CHOP), ich vzájomnú reguláciu a potenciálnu kompenzáciu pri poškodení hepatocytov. Na experimentálne overenie boli využité in vitro modely. Pre analýzu zmien v bunkovej homeostáze sa využili molekulárne-biologické metódy. Výsledky práce prispievajú k objasneniu vzťahu medzi steatózou a deficitom α_1 -antitrypsínu a pomôžu lepšie pochopiť ich spoločné pôsobenie pri vzniku a progresii ochorení pečene.

Analýza potenciálních negativních vlivů fototerapie při léčbě novorozenecké žloutenky

Bc. Daniela Semlerová (ročník M2)

Školitel: RNDr. Aleš Dvořák, Ph.D.

Práce se zabývá vznikem oxidačního stresu v surogátním buněčném modelu při *in vitro* fototerapii (FT) novorozenecké žloutenky. Závažnou formou nemoci v Evropě trpí cca 10 % dětí. Možným způsobem léčby je fototerapie modro-zeleným světlem, avšak u takto intenzivně léčených dětí byla později pozorována vyšší incidence alergií, astmatu nebo diabetu I. typu. Stále chybí data, která by potvrdila nebo vyvrátila vznik oxidačního stresu během samotné léčby. Naším cílem je prozkoumat právě tyto potenciální mechanismy negativního působení FT.

Byly zkoumány faktory ovlivňující spotřebu kyslíku při *in vitro* simulaci FT. Roztoky bilirubinu (BR) v médiu (0; 5; 20 $\mu\text{mol/l}$) a buňky buněčné linie HepG2 (z hepatoblastomu, s analyzovanou viabilitou) byly 60 min ozařovány (460 nm). Změna spotřeby kyslíku se měřila oxygrafem O2k (Oroboros Instruments). Dále byla zkoumána produkce superoxidu (fluorescenční barva MitoSOX Ex.: 488 nm; Em.: 560 nm) v podmínkách *in vitro* FT. Vzorky byly měřeny fluorescenčním readerem (TECAN, France) na 96-wellu.

Bylo zjištěno, že zvolené koncentrace BR nijak výrazně nesnižují viabilitu buněk, a to ani během FT. Spotřeba kyslíku byla navýšena nejen u osvětlených vzorků, ale také u vzorků s vyšší koncentrací bilirubinu. Vyšší produkce superoxidu vyvolaná FT nebyla potvrzena.

Sledování funkčních a morfologických vlastností fibrinových sítí u vybraných pacientů s koagulopatiemi a u gravidních žen

Bc. Tereza Sklenářová (ročník M2)

Školitel: doc. Mgr. Ing. Bc. Roman Kotlín, Ph.D., MHA

Koagulopatie představují heterogenní skupinu stavů, při kterých je narušena rovnováha mezi prokoagulačními a antikoagulačními procesy. Vzácnou formou těchto onemocnění jsou kongenitální poruchy fibrinogenu způsobené variacemi v genech pro fibrinogen. Výsledkem jsou kvantitativní či kvalitativní defekty fibrinogenu vedoucí k různorodým patologickým stavům. Oproti tomu těhotenství je provázeno fyziologickým rozvojem hyperkoagulace, která může vést k rozvoji tromboembolických komplikací. Cílem této práce je sledovat tvorbu a následný rozklad fibrinových sítí u pacientů s kongenitální afibrinogenemií, hypofibrinogenemií nebo dysfibrinogenemií a určit vztah mezi konkrétní variantou a klinickým projevem onemocnění. U gravidních žen je kromě funkčních parametrů polymerace a fibrinolýzy hodnocena také morfologie vzniklé sítě pomocí mikroskopických metod. Spojení těchto dat s koagulačními parametry by umožňovalo přesnější charakterizaci koagulačního stavu za účelem předejít vzniku tromboembolické nemoci v těhotenství.

Zavedení modelu in vitro pro sledování zánětlivých procesů ve střevní bariéře

Bc. Richard Zahradníček (ročník M2)

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

Idiopatické střevní záněty, jako jsou Crohnova choroba a ulcerózní kolitida, představují chronická onemocnění s komplexní patogenezí, jejichž studium je limitováno nedostatkem vhodných modelů *in vitro*. Cílem této práce bylo nalézt vhodné podmínky pro indukci kontrolovatelného chronického zánětu v modelu lidské střevní bariéry *in vitro*. Nejprve byla diferencována monovrstva epitelálních buněk obsahující enterocyty a gobletové buňky. Ta byla kultivovaná po dobu 21 dnů a poté byla rozšířena o kokultivaci s imunitními buňkami. Následně byl model vystaven opakované indukci zánětu, jehož efekt byl kvantitativně hodnocen pomocí trans-epiteliálního elektrického odporu (TEER), kterým lze měřit integritu bariéry. Ve výsledném protokolu je zánět indukován třemi opakovanými expozicemi bakteriálním lipopolysacharidem (LPS) ve čtyřdenních intervalech. Po poslední expozici je TEER sledován ještě 10 dnů, kdy u bariér stimulovaných třetí dávkou LPS dochází k postupné obnově integrity. Tento model bude dále využit k testování bioaktivních látek z hlediska obnovy bariérové funkce. Látky s potenciálním protizánětlivým účinkem budou přidávány spolu s třetí dávkou LPS za účelem hodnocení jejich účinku na již probíhající zánět, přičemž účinnost bude posouzena i analýzou cytokinového profilu.

Mikrobiologie

KOMISE:

DOC. DR. ING. ZUZANA NOVOTNÁ (PŘEDSEDA)

DOC. ING. IGOR HOCHEL

ING. TEREZA LEONHARDT, PH.D.

ING. NIKOLA VRZÁČKOVÁ, PH.D.

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

PROGRAM

09:00 zahájení

Bc. EVA HANUŠKOVÁ (M2)

Characterization of the bacterial killing mechanism by hok/Sok

Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Bc. DAVID HLIBOKÝ (M2)

Monitoring mikrobiální kontaminace v ovzduší depozitářů Národní knihovny ČR

doc. Ing. Hana Stiborová, Ph.D.

Bc. LUCIE KRUNCLOVÁ (M2)

Antimikrobiální aktivita derivátů betulinové, ursolové a ursonové kyseliny

doc. Ing. Petra Lovecká, Ph.D.

Bc. MICHAL LUPTÁK (M2)

Využití půdních bakterií k ochraně brambor před měkkou hnilobou

Ing. Hana Sýkorová, Ph.D.

Bc. MICHAEL MACHEK (M2)

Tvorba a odolnost biofilmu *Lacticaseibacillus rhamnosus* na polyamidových nanomateriálech

Ing. Simona Lencová, Ph.D.

Bc. JAN ŠPAČEK (M2)

Izolace a charakterizace endofytních mikroorganismů z fíkovníku smokvoně (*Ficus carica* L.) a stanovení jejich antifungální aktivity

doc. Ing. Petra Lovecká, Ph.D.

Bc. BARBORA ULČÁKOVÁ (M2)

Vliv antimikrobiálních látek na tvorbu biofilmu *Staphylococcus aureus* a koaguláza negativních stafylokoků

Ing. Sabina Purkrťová, Ph.D.

Bc. LUCIE VYCHYTILOVÁ (M2)

Studium aktivity podpory růstu rostlin půdních bakteriálních izolátů z rhizosféry ječmene setého (*Hordeum vulgare* L.)

Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.

Characterization of the bacterial killing mechanism by *hok/Sok*

Bc. Eva Hanušková (ročník M2)

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Antibiotic resistance is a growing global challenge that demands the development of novel antibacterial strategies. The *hok/Sok* system, a toxin–antitoxin (TA) module widespread among *Enterobacteriaceae*, induces bacterial cell death and thus represents a promising target for new antimicrobial approaches. The *hok/Sok* system consists of the Hok killer protein and the Sok RNA antitoxin. Sok prevents translation of *hok* by binding to its mRNA. This system, encoded on plasmids, leads to killing of bacteria losing the plasmid by a mechanism named post-segregational killing (PSK). While the molecular details of the PSK mechanism has been intensively studied, it is not known how bacteria can escape this killing mechanism and what modulates PSK efficiency. Here, we investigated the effect of various determinants on the killing efficiency by the *hok/Sok* system. We induced plasmid loss and monitored PSK activity.

Monitoring mikrobiální kontaminace v ovzduší depozitářů Národní knihovny ČR

Bc. David Hliboký (ročník M2)

Školitel: doc. Ing. Hana Stiborová, Ph.D.

Monitoring mikrobiální kontaminace hraje klíčovou roli v ochraně písemného kulturního dědictví. Výskyt mikroorganismů v ovzduší pak přímo souvisí s mírou rizika pro uložené archivní materiály. Cílem této práce je určení rozsahu mikrobiální kontaminace v prostorách deponitářů a identifikace přítomných druhů bakterií a mikromycet. Dnešní metody metagenomické analýzy umožňují identifikovat mikroorganismy přímo ze vzorků vzduchu, včetně těch na médiích nekultivovatelných. Z důvodů všeobecného rozšíření bylo dále využito i metody klasické kultivace s aplikací postupů zvyšujících kultivovatelnost, jakým je v případě bakterií přidavek resuscitaci podporujícího faktoru z *Micrococcus luteus*. V rámci dosavadní experimentální činnosti došlo k odběru vzorků vzduchu v deponitářích Národní knihovny ČR s různým režimem přístupnosti, ze kterých byla izolována celková DNA a RNA. Pomocí PCR byly poté připraveny amplikony pro 16S rRNA a ITS oblast, které budou sekvenovány metodou Illumina MiSeq. Pro kultivační přístup byly vyhodnoceny počty narostlých kolonií tvořících jednotek a identifikace proběhne taktéž výše uvedenou metodou sekvenace. Dle předběžných výsledků se potvrzuje hypotéza, že nejmenší kontaminace je v prostorách s kontrolovaným vnitřním prostředím a omezeným přístupem personálu.

Antimikrobiální aktivita derivátů betulinové, ursolové a ursonové kyseliny

Bc. Lucie Krunclová (ročník M2)

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

Bakterie jsou nám životu prospěšné, avšak předmětem intenzivního zájmu se stávají hlavně ve chvílích, kdy nám vyvolávají infekce či jiná onemocnění. S tímto problémem úzce souvisí fenomén antimikrobiální rezistence, představující celosvětově narůstající hrozbu pro veřejné zdraví. Vzhledem k tomu, že některé patogenní bakterie již vykazují rezistenci vůči konvenčním antibiotikům, je nezbytné hledat nové antimikrobiálně aktivní látky. Jedním ze směrů výzkumu je využití přírodních sloučenin, mezi něž patří betulinová, ursolová a ursonová kyselina – triterpenoidní látky přirozeně se vyskytující v rostlinné říši. Tyto sloučeniny byly dále synteticky modifikovány za vzniku derivátů, jejichž biologická aktivita je předmětem testování v této práci.

Cílem projektu je posoudit, zda uvedené látky vykazují inhibiční účinek na růst patogenních kožních mikroorganismů, a to prostřednictvím měření růstových křivek. Součástí experimentu je i stanovení minimální účinné koncentrace daných látek pomocí vytvoření koncentrační řady. V této fázi výzkumu je pozornost zaměřena na kožní patogeny – *Cutibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus* a *Malassezia* spp. U látek, které prokážou žádoucí antimikrobiální účinek, bude následně testována cytotoxicita, aby byla posouzena jejich bezpečnost pro potenciální terapeutické využití.

Využití půdních bakterií k ochraně brambor před měkkou hnilobou

Bc. Michal Lupták (ročník M2)

Školitel: Ing. Hana Sýkorová, Ph.D.

Mezi nejzávažnější fytopatogenní mikroorganismy napadající brambory patří bakterie měkké hniloby. Tyto bakterie se rychle šíří prostředím z napadené rostliny a disponují širokým enzymatickým aparátem, díky kterému mohou efektivně rozkládat rostlinná pletiva. Konvenční metody ochrany brambor spoléhají především na prevenci, ale po propuknutí infekce již nedokáží rostliny spolehlivě chránit. Nadějnou alternativu představují biologické metody založené na využití antagonistických bakterií nebo jiných biologických činitelů. Tato práce je zaměřena na izolaci půdních bakterií z prostředí, v nichž se brambory pěstují, a na testování jejich inhibičního účinku vůči původcům měkké hniloby. Vybrané izoláty s výraznou aktivitou vůči bakteriím měkké hniloby byly dále testovány i na samotných hlízách brambor, z těchto experimentů však nebyly dosud získány jednoznačné výsledky. Vybrané izoláty se silnou inhibiční aktivitou byly blíže identifikovány metodou MALDI-TOF MS. Práce bude dále pokračovat bližší charakterizací účinku vybraných izolátů a testováním in situ na hlízách. Experimenty také probíhají ve spolupráci s Výzkumným ústavem bramborářským v Havlíčkově Brodě, kde některé z izolátů postoupily do polních testů. Tato práce vznikla s finanční podporou MZe ČR v rámci projektu QL24010148.

Tvorba a odolnost biofilmu Lactocaseibacillus rhamnosus na polyamidových nanomateriálech

Bc. Michael Machek (ročník M2)

Školitel: Ing. Simona Lencová, Ph.D.

V rámci vývoje a produkce probiotik se v poslední době těší velké pozornosti probiotika čtvrté generace. Tato probiotika se od předchozích generací odlišují tím, že jsou tvořena ve formě biofilmu. Takové biofilmy však pro svou produkci vyžadují vhodný nosič, který by svými fyzikálně-chemickými vlastnostmi podporoval nárůst a proliferaci probiotických bakterií. Nanovláknenné materiály se ukazují jako slibné, avšak zatím málo prozkoumané nosiče biotechnologicky významných mikroorganismů se značným aplikačním potenciálem. V rámci této práce byly testovány interakce dvou kmenů bakterie *Lactocaseibacillus rhamnosus* (CCM 1828, GG) s polyamidovými (PA) nanomateriály, lišícími se průměrem vláken (87,7 nm; 151,7 nm; 236,2 nm), nikoli však svou plošnou hustotou. Nejprve byla ověřena tvorba biofilmů jednotlivých kmenů bakterie *L. rhamnosus* na referenčním materiálu polystyrenu a následně proběhlo testování tvorby těchto biofilmů na PA nanomateriálech, a to pomocí stanovení počtu KTJ/cm² a skenovací elektronové mikroskopie (SEM). Dále byl ověřen vliv vybraných pH prostředí na odolnost biofilmu. Pro oba kmeny byl zaznamenán vyšší nárůst biofilmů na nanomateriálech s větším průměrem vláken, a to po dvou i devíti dnech kultivace. Stabilní nárůst biofilmů byl znázorněn SEM a potvrzen pro pH 4 a 7.

Izolace a charakterizace endofytních mikroorganismů z fíkovníku smokvoně (Ficus carica L.) a stanovení jejich antifungální aktivit

Bc. Jan Špaček (ročník M2)

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

Ke zvýšení zemědělských výnosů se dnes běžně využívají pesticidy a hnojiva. Přestože tyto aplikace zvyšují zemědělskou produkci, mají negativní dopad jak na člověka, tak i na životní prostředí. Endofytní mikroorganismy, žijící uvnitř rostlin, by v budoucnu mohly představovat ekologičtější alternativu k běžně používaným agrochemikáliím. S rostlinou navazují endofytní mikroorganismy různé vztahy a pozorujeme u nich vlastnosti podporující růst rostlin a antifungální ochranu. V této práci byly izolovány endofytní mikroorganismy z listů fíkovníku smokvoně (*Ficus carica* L.), které byly identifikovány metodou MALDI-TOF MS. U izolátů byla dále provedena charakterizace vlastností podporujících růst rostlin, utilizace různých substrátů a antifungální aktivita proti běžným zemědělským patogenům. V dalších krocích se tato práce bude zabývat antifungální aktivitou supernatantů získaných kultivací izolátů v bioreaktorech. Dále budou na semenech vybrané rostliny testovány schopnosti izolátů podporovat klíčení semen a schopnost potlačení rozvoje onemocnění způsobeného inokulací patogenními mikromycetami. Součástí práce bude také holotomografická mikroskopie pro studium morfologických změn hyf v přítomnosti supernatantů obsahujících látky s antifungálním účinkem.

Vliv antimikrobiálních látek na tvorbu biofilmu *Staphylococcus aureus* a koaguláza negativních stafylokoků

Bc. Barbora Ulčáková (ročník M2)

Školitel: Ing. Sabina Purkrťová, Ph.D.

Grampozitivní bakterie rodu *Staphylococcus* jsou běžnou součástí humánního bakteriomu kůže a sliznic. Některé druhy však mohou být oportunními patogeny a původci nozokomiálních infekcí. Typickým identifikačním znakem je produkce enzymu plazmokoagulázy, podle níž se stafylokoky dělí na koaguláza pozitivní a negativní druhy. Důležitým faktorem přispívajícím k šíření stafylokoků je jejich schopnost tvořit biofilm – mnohobuněčné společenství propojené extracelulární polymerní maticí. U stafylokoků byla tvorba biofilmu prokázána u různých typů povrchů, například i na kloubních náhradách nebo epitelu dýchacích cest, spolu s jeho vyšší odolností vůči antimikrobiálním látkám. Cílem této práce je zjistit, zda subinhibiční koncentrace dezinfekčních prostředků běžně používaných v klinické praxi mohou ovlivňovat tvorbu biofilmu u stafylokoků a přispívat k jejich šíření. V úvodní části byl u referenčního kmene *S. aureus* ATCC 25923 (CCM 3953) sledován vliv různých podmínek na růst, tvorbu a kvantifikaci biofilmu v mikrotitračních destičkách barvených krystalovou violetí. Následně byly testovány účinky vybraných dezinfekcí se stanovenou minimální inhibiční koncentrací na 30 klinických izolátech *S. aureus* (10 senzitivních a 20 rezistentních k methicilinu) a 10 koaguláza negativních stafylokoků.

*Studium aktivity podpory růstu rostlin půdních bakteriálních izolátů z rhizosféry ječmene setého (*Hordeum vulgare* L.)*

Bc. Lucie Vychytilová (ročník M2)

Školitel: Ing. Jáchym Šuman, Ph.D.

V posledních letech narůstá snaha o nahrazení anorganických hnojiv ekologicky šetrnějšími alternativami, například bakteriemi podporujícími růst rostlin, jež mohou zvyšovat dostupnost živin, produkovat fytohormony či potlačovat proliferaci fytopatogenů. Rostliny pravděpodobně selektují prospěšné bakterie v rhizosféře prostřednictvím kořenových exudátů. Cílem této práce je získat a identifikovat bakteriální izoláty z rhizosféry ječmene setého (*Hordeum vulgare* L.) a otestovat jejich schopnost podporovat růst rostlin. Bylo získáno celkem 34 izolátů, které byly identifikovány a dereplikovány pomocí hmotnostní spektrometrie v režimu MALDI-TOF a sekvenace genu pro 16S rRNA. U výsledných 25 izolátů byly testovány dílčí aktivity podporující růst rostlin, konkrétně schopnost produkce kyseliny indol-3-octové, solubilizace fosforečnanů, fixace dusíku a produkce 1-aminocyklopropan-1-karboxylátdeaminasy. Řada izolátů vykazovala jednu či více z uvedených aktivit, šest z nich bylo vybráno pro další zkoumání jejich potenciálního použití jako složek biohnojiv. Další část práce bude zaměřena na testování tolerance vybraných izolátů vůči zvýšené salinitě a ověření schopnosti potlačovat růst vybraných fytopatogenů. Nakonec bude ověřena schopnost izolátů podporovat růst rostlin přímo v půdě.

Produkce a charakterizace proteinů

KOMISE:

DOC. ING. JAROSLAV ZELENKA, PH.D. (PŘESEDÁ)

ING. MICHAL STREJČEK, PH.D.

ING. JÁCHYM ŠUMAN, PH.D.

ING. TATIANA SMIRNOVA, PH.D.

MÍSTO: PROSTORY ÚSTAVU 320

PROGRAM

09:00 zahájení

ANASTASIA BREDICHINA (B1)

Vývoj stabilní buněčné linie exprimující geneticky kódovaný indikátor pro měření koncentrace intracelulárního vápníku

Mgr. Miroslav Hájek, Ph.D.

BC. LUCIE KLIMEŠOVÁ (M2)

Potenciál mutované varianty alfa-L-fukosidasy iso 1 z *P. thiaminolyticus* v syntéze fukosylovaných oligosacharidů

Ing. Eva Benešová Ph.D., doc. RNDr. Bojarová Pavla, Ph.D.

BC. FILIP KOVAŘÍK (M2)

Non-structural protein 14 of the SARS-CoV-2 virus and its I42V mutant

Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

BC. PETRA MAŘÁNOVÁ (M2)

Charakterizace genu *psiT1* u houby *Psilocybe cubensis*

Ing. Jan Sácký, Ph.D.

Bc. ALINA MURTAZINA (M2)

Expres a studium funkce genu psiT2 v psilocybin-produkující houbě *Psilocybe cubensis*

Ing. Jan Sácký, Ph.D.

Bc. GABRIELA PAPEŽOVÁ (M2)

Rekombinantní příprava proteasy z *Euphausia superba* v kvasinkovém expresním systému

doc. Ing. Petra Lipovová, Ph.D.

Bc. JAKUB RYBA (M1)

Expression and purification of mavirus integrase and terminal protein for integration studies

Ing. Bára Křížková Ph.D.

Bc. BARBORA ŠMÍDKOVÁ (M1)

Zavedení fluorescenčního značení proteinů pomocí sortázy

Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Vývoj stabilní buněčné linie exprimující geneticky kódovaný indikátor pro měření koncentrace intracelulárního vápníku

Anastasia Bredichina (ročník B1)

Školitel: Mgr. Miroslav Hájek, Ph.D.

Ca²⁺ vystupuje v roli druhého posla při mnohých buněčných procesech. Z tohoto důvodu je vývoj spolehlivých a minimálně invazivních metod pro sledování změn intracelulární koncentrace volného vápníku v reálném čase důležitý jednak pro objasnění těchto procesů, jednak pro testování léčiv zaměřených na receptory a kanály, které hrají roli při intracelulární Ca²⁺ signalizaci.

Geneticky kódované indikátory vápníku mají oproti barvivům mnoho výhod, mezi které se řadí jejich nižší toxicita, cena a variabilita výsledků, lepší reprodukovatelnost experimentu, přizpůsobitelné vlastnosti, rychlejší postup práce umožňující high-throughput screening a možnost opakovaných a dlouhodobých experimentů díky stabilní intracelulární expresi indikátoru.

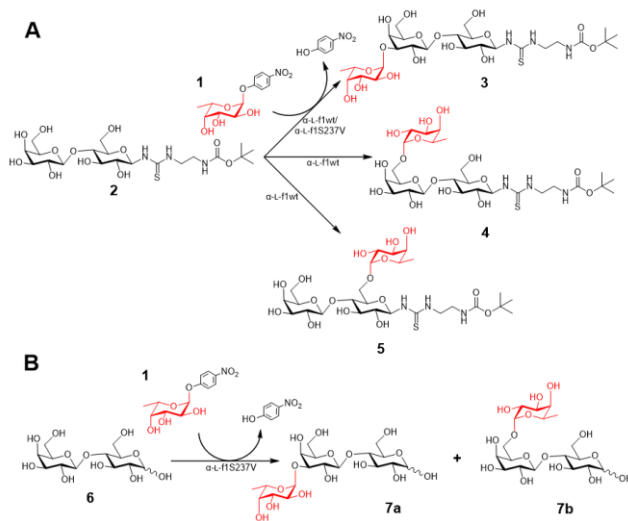
Cílem této práce bylo vyvinout a validovat vysoce citlivou a stabilní reportérovou buněčnou linii HEK293 se stabilní expresí fluorescenčního indikátoru vápníku (GCaMP6m) pro high-throughput screening agonistů a antagonistů GPCR, které aktivují Gq-zprostředkovanou intracelulární Ca²⁺ signalizaci. Zvláštní pozornost byla věnována charakterizaci farmakologických profilů olfaktorických GPCR.

Potenciál mutované varianty alfa-L-fukosidasy iso 1 z *P. thiaminolyticus* v syntéze fukosylovaných oligosacharidů

Bc. Lucie Klimešová (ročník M2)

Školitel: Ing. Eva Benešová Ph.D., doc. RNDr. Bojarová Pavla, Ph.D.

L-Fukosylované oligosacharidy jsou důležitou složkou mateřského mléka a umělých kojeneckých výživ. Jejich chemická syntéza je nákladná, je tedy snaha nalézt efektivnější enzymovou metodu. α -L-Fukosidasy mohou katalyzovat odštěpení i přenos fukosylové jednotky na vhodný akceptor a představují tak vhodný nástroj pro syntézu oligosacharidů. Cílem této práce bylo otestovat potenciál α -L-fukosidasy iso 1 z bakterie *Paenibacillus thiaminolyticus* s mutací S237V zvyšující transglykosylační aktivitu v transglykosylačních reakcích s laktosou (**6**) a laktosyl-tBoc (**2**). Reakční směs byla analyzována pomocí TLC a HPLC. Díky mutaci S237V bylo dosaženo zvýšení výtěžku o 20% a zlepšení regioselektivity, neboť nemutovaný enzym tvořil s laktosyl-tBoc tři produkty (**3**, **4**, **5**), kdežto mutovaný enzym poskytl převážně jeden produkt (**3**). S laktosou vznikaly u mutantní formy dva regioisomery (**7a**, **7b**). Mutace S237V zvyšuje účinnost α -L-fukosidasy a může zefektivnit syntézu fuko-oligosacharidů.



Obr. 1: Enzymová syntéza (**A**) trisacharidů 3'-FucLac-tBoc (**3**; Fuc α 3Gal β 4Glc-tBoc), 6'-FucLac-tBoc (**4**; Fuc α 6Gal β 4Glc-tBoc), 6-FucLac-tBoc (**5**; Gal β 4(Fuc α 6)Glc-tBoc) a (**B**) trisacharidů 3'-FucLac (**7a**; Fuc α 3Gal β 4Glc) a 6'-FucLac (**7b**; Fuc α 6Gal β 4Glc) katalyzovaných enzymy α -L-f1Pth-wt a/nebo α -L-f1Pth-S237V.

Non-structural protein 14 of the SARS-CoV-2 virus and its I42V mutant

Bc. Filip Kovařík (ročník M2)

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Non-structural protein 14 (nsp14) is a key part of the coronavirus replication-transcription complex (RTC). It contains an N-terminal 3'-5' exonuclease (ExoN) domain, assisting the RTC in RNA proofreading, which enables coronaviruses to hold large RNA genomes. To achieve catalytic function, nsp14 needs to interact with another non-structural protein, nsp10. The nsp14 amino acid substitution I42V is overrepresented in certain rapidly spreading COVID-19 variants. This fact suggests that it gives the virus a fitness advantage. However, the I42V amino acid substitution is located outside the ExoN active site and is not directly involved in the nsp10 interaction. It is our hypothesis that the nsp14I42V amino acid substitution could increase the flexibility of the ExoN domain during its interaction with nsp10. To study the effects of this amino acid substitution on the activity and stability of nsp14, we produced both the mutant and wild-type of nsp14, together with nsp10. Preliminary results of nsp14 WT and I42V chemical stability, measured on the Prometheus Panta, point to a lower stability of the nsp14I42V mutant, which is in line with our expectations.

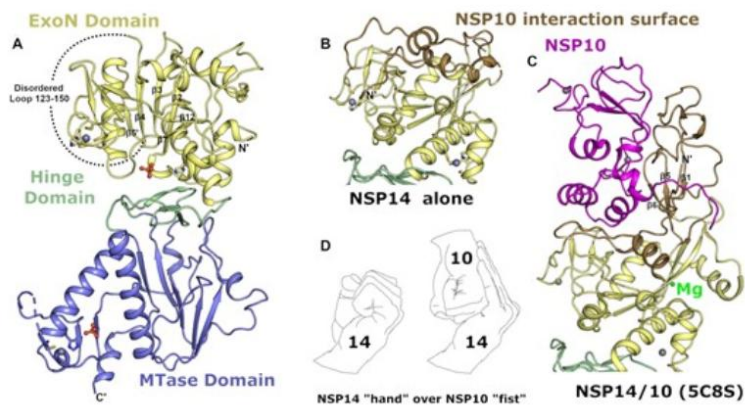


Figure 1 A: Structure of nsp14 with marked domains. B: Zoom-in on the ExoN domain. C: Zoom-in on the nsp14-nsp10 dimer structure. D: Schematic representation of nsp14-nsp10 dimerization. (Imprachim et. al., 2022)

Charakterizace genu *psiT1* u houby *Psilocybe cubensis*

Bc. Petra Mařánová (ročník M2)

Školitel: Ing. Jan Sácký, Ph.D.

Houba *Psilocybe cubensis* je známá díky svým halucinogenním účinkům. Mezi psychoaktivní látky, které houba produkuje, patří mimo jiné alkaloid psilocybin. Ten je kódován pomocí *psi* genů, které se nacházejí v genovém klastru. V této práci se zaměříme na gen *psiT1*, jehož role v syntetické dráze psilocybinu není doposud známá. Cílem této práce je objasnění funkce tohoto genu v myceliích *P. cubensis* pomocí bakterie *Agrobacterium tumefaciens* (*Rhizobacterium*). Byly připraveny dva druhy transformantů se zvýšenou expresí genu *psiT1*: nejprve se samotným genem *psiT1* a poté, pro určení lokalizace, ve spojení se sekvencí kódující fluorescenční protein mCherry. K ověření exprese proteinu mCherry byla využita fluorescenční mikroskopie. Další možností, jak zkoumat funkci genu *psiT1* v myceliích *P. cubensis*, je jeho umlčení. To bude provedeno pomocí systému dCas9, který umožňuje cílené potlačení exprese genu bez narušení jeho sekvence. Účinnost obou přístupů bude vyhodnocena metodou qPCR. Nakonec bude pomocí UHPLC-MS měřena koncentrace meziproductů vyskytujících se v syntetické dráze psilocybinu, což by nám mělo pomoci odhalit, do kterého kroku metabolické dráhy se gen *psiT1* zapojuje.

Exprese a studium funkce genu *psiT2* v psilocybin-produkující houbě *Psilocybe cubensis*

Bc. Alina Murtazina (ročník M2)

Školitel: Ing. Jan Sácký, Ph.D.

Houba *Psilocybe cubensis* se vyznačuje psychoaktivními vlastnostmi způsobenými látkou psilocybinem. Geny psilocybinové biosyntetické dráhy jsou uloženy v genovém klastru, který obsahuje sedm genů. Čtyři z těchto genů kódují enzymy katalyzující postupnou přeměnu tryptofanu na psilocybin a zbylé tři geny kódují domnělé transportéry *psiT1*, *psiT2* a transkripční faktor *psiR*. Psilocybin vzbudil zájem vědecké komunity pro svůj možný přínos v léčbě deprese, závislosti a OCD. Užívání přírodních plodnic *P. cubensis* bývá účinnější, protože kromě psilocybinu obsahují i doprovodné látky, například β -karboliny, které zpomalují jeho rozklad a prodlužují účinek. Nicméně nevýhodou je kolísání koncentrace psilocybinu a dalších metabolitů v plodnicích *P. cubensis*. Objasnění role genů *psiT1*, *psiT2* a *psiR* v produkci psilocybinu by mohlo tyto změny koncentrací vysvětlit. Cílem této práce je zjistit funkci genu *psiT2* v myceliu *P. cubensis* pomocí jeho zvýšené exprese, umlčení pomocí ihpRNA a CRISPR interference (CRISPRi) a stanovení lokalizace exprimovaného proteinu navázáním fluorescenční značky. Po získání transformantů budou následovat analytické studie – stanovení úrovně exprese genů pomocí qPCR, stanovení koncentrací metabolitů metodou UHPLC-MS a fluorescenční mikroskopie.

*Rekombinantní příprava proteasy z *Euphausia superba* v kvasinkovém expresním systému*

Bc. Gabriela Papežová (ročník M2)

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

Proteasy představují rozsáhlou skupinu enzymů, které katalyzují hydrolytické štěpení peptidových vazeb a hrají klíčovou roli v řadě biologických procesů, od trávení až po regulaci buněčného cyklu. Díky své specifitě a účinnosti nacházejí široké uplatnění v biotechnologii, medicíně i průmyslu. V posledních letech roste zájem o studium proteas z organismů žijících v extrémních podmínkách, které často vykazují unikátní strukturní i funkční vlastnosti. Antarktický krill (*Euphausia superba*), obývající chladné vody Jižního oceánu, produkuje proteasy s vysokou fibrinolytickou aktivitou a stabilitou při nízkých teplotách. Tyto enzymy vykazují značný potenciál pro biomedicínské aplikace, například při léčbě trombotických onemocnění či v enzymovém ošetření ran. Cílem této práce je rekombinantní příprava proteasy z *E. superba* v expresním systému kvasinky *Komagataella phaffii*. Enzym se doposud podařilo exprimovat a v malém množství také izolovat. V dalším kroku se práce zaměří na zvýšení výtěžnosti produkce, purifikaci získaného proteinu a stanovení jeho enzymové aktivity.

Expression and purification of mavirus integrase and terminal protein for integration studies

Bc. Jakub Ryba (ročník M1)

Školitel: Ing. Bára Křížková Ph.D.

Virophages are small dsDNA viruses that depend on giant viruses for replication. Mavirus, one of the few isolated representatives, has a unique property to integrate its DNA into the host nuclear genome. It encodes a retrovirus-like integrase (Rve-INT) and a protein-primed DNA polymerase (pPolB), suggesting a potential novel integration mechanism. The N-terminal part of pPolB serves as terminal protein (TP), which is used as a primer to initiate DNA replication. AlphaFold complex modelling predicts a high-confidence interaction between Rve-INT and TP, and possibly dimerization of this complex after DNA binding. Our objectives are recombinant production of both proteins, validation of their interaction and multimerization states, and functional assessment of 3' processing and strand transfer activities. We expressed untagged and tagged variants of Rve-INT and TP in *Escherichia coli*, adjusting protein- and strain-specific conditions: Rve-INT in Origami, SHuffle and Rosetta-gami strains; TP in BL21 strain. Purification under variable conditions employed His-Trap affinity chromatography, Ulp1-mediated cleavage of anchor and reverse His-Trap with SDS-PAGE analysis. These recombinant proteins will help us confirm our prediction and better understand the viral integration mechanism.

Zavedení fluorescenčního značení proteinů pomocí sortázy

Bc. Barbora Šmídková (ročník M1)

Školitel: Ing. Markéta Častorálová, Ph.D.

Cílem práce je zavést metodu značení proteinů pomocí enzymu sortáza, také nazývanou „sortagging“. V rámci experimentu bude modelový protein transpedován se substrátem pro click chemistry, DBCO, pomocí které bude protein fluorescenčně značen. Sortáza je transpeptidáza pocházející z bakterie *Staphylococcus aureus*. Rozpoznává sekvenci GGG na N-konci a LPXTG na C-konci proteinů a umožňuje připojení značeného peptidu. Pomocí mutagenese byly připraveny mutantní formy, které značně zvyšují aktivitu nebo zajišťují nezávislost na Ca^{2+} iontech při zachování zvýšené aktivity. Pro náš experiment byla vybrána mutantní varianta sortázy 5M, která vykazuje nejvyšší aktivitu *in vitro*. Plazmid pJL1Sortase pro její produkci v bakteriálním expresním systému byl pořízen z databáze Addgene (#106288). Jako modelový substrát pro značení sortázou byl vybrán nestrukturní protein 14 (nsp14) viru SARS-CoV 2. Pomocí mutagenese byly přidány značky na N- a C- konec nsp14 pro sortagging. Vznikly tak proteiny GGG-nsp14 a nsp14-LPETGG. Bakteriální produkce obou variant nsp14 byla testována v *E. coli* Rosetta(DH3) a sortázy v *E. coli* BL21(DE3). Všechny proteiny v budoucnu budou produkovány v preparativním měřítku, izolovány a budou testovány podmínky a možnosti značení proteinu nsp14 sortázou *in vitro*.

Ústav sacharidů a cereálií (321)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Roman Bleha, Ph.D.

SEZNAM SEKCIÍ

1. [Ústav sacharidů a cereálií](#)

Ústav sacharidů a cereálií

MÍSTO: B 40 KNIHOVNA ÚSTAVU

KOMISE

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

prof. Mgr. Andrej Sinica, Ph.D.

doc. Ing. Svatopluk Henke, Ph.D.

Ing. Petra Smrčková, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:00 [Bc. Marek Sogel](#) (M2, Ing. Roman Bleha, Ph.D.)

Strukturní analýza frakcí polysacharidů pivovarského mláta

09:20 [Bc. Jáchym Šilha](#) (M1, Ing. Simona Gillarová, Ph.D.)

Chromatografická frakcionace cukerných šťáv

09:40 [Bc. Markéta Bauerová](#) (M1, Ing. Petra Smrčková, Ph.D.)

Příprava nutričně hodnotných extrudovaných výrobků z luštěnin

10:00 [Bc. Belén Rocío de Lourdes Otero Alvarado](#) (B3, Ing. Roman Bleha, Ph.D.)

Exploring the encapsulation potential of Glucan Particles for nucleic acid delivery

10:20 [Bc. Marharyta Zhovnarenko](#) (M1, doc. Ing. Marcela Sluková, Ph.D.)

Tepelné a strukturní změny v chlebu během pečení

10:40 [Bc. Julie Trousilová](#) (M2, prof. Ing. Jana Čopíková, CSc.)

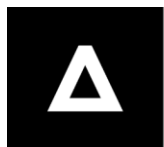
Reformulace čokolády kokrystaly lipofilních vitaminů

11:00 [Bc. Olga Martynková](#) (M1, doc. Ing. Marcela Sluková, Ph.D.)

Vývoj cereální směsi pro výrobu chleba se zvýšenou nutriční hodnotou

vyhlášení výsledků

SPONZOŘI - ÚSTAV SACHARIDŮ A CEREÁLÍ



P-LAB



NICOLET CZ
MOLECULAR SPECTROSCOPY



SHIMADZU
Excellence in Science



helago[®]

AAK



La Lorraine
BAKERY GROUP

Strukturní analýza frakcí polysacharidů pivovarského mláta

Bc. Marek Sogel (ročník M2)

Školitel: Ing. Roman Bleha, Ph.D.

V rámci této práce jsou analyzovány frakce polysacharidů extrahovaných z pivovarského mláta obsahujícího výhradně ječný slad, získaného výrobou světlého ležáku. Byla provedena vícenásobná extrakce, nejprve studenou vodou při laboratorní teplotě, poté za varu horkou vodou v topném hnízdě po dobu 4 h pod zpětným chladičem, a nakonec alkalickým roztokem 1M NaOH při 4 °C. Vybrané extrakty byly analyzovány pomocí FTIR spektroskopie v rozsahu vlnočtů 4000–400 cm^{-1} a bylo analyzováno monosacharidové složení pomocí GC/FID.

Výzkum pivovarského mláta lze opodstatnit jeho relativně vysokou produkcí v našem česko-německém prostoru, což usnadňuje zajištění vhodnosti pro lidskou spotřebu.

Kromě toho je pivovarské mláto bohaté na zejména na nerozpustnou vlákninu a také bílkoviny. V sušině se jedná o 72 hm. % nerozpustné vlákniny a 28 hm. % bílkovin. Právě vysoký obsah bílkovin je důvod pro jeho dosavadní využití jako suroviny krmných směsí.

Zkoumané studenovodní a horkovodní extrakty obsahují zejména arabinosu a xylosu, resp. arabinoxylany a glukosu, resp. glukany. Přítomnost arabinoxylanů a glukanů lze potvrdit i na základě naměřených FTIR spekter.

Chromatografická frakcionace cukerných šťáv

Bc. Jáchym Šilha (ročník M1)

Školitel: Ing. Simona Gillarová, Ph.D.

Práce se zabývá optimalizací podmínek diskontinuální chromatografické separace difuzních řepných šťáv, které jsou prvním krokem výroby sacharosy z cukrové řepy (*Beta vulgaris*). V literární části je uveden přehled hlavních kroků cukrovarnického procesu a hlavních chemických složek obsažených v cukrové řepě. Důraz je kladen na možnosti separace cukrů a necukrů pomocí preparativní kapalinové chromatografie.

Experimentální část práce se zaměřuje na studium vlivu teploty, teploty chromatografické kolony, objemového průtoku a typu kationtově výměnného sorbentu na účinnost separace. K ověření metodiky byly využity vodné modelové směsi sacharidů, betainu a kyseliny mléčné, analýza získaných frakcí byla provedena pomocí metody HPCEC/RID. Výsledky umožnily navrhnout optimalizaci pracovních podmínek pro efektivnější chromatografickou frakcionaci složek obsažených v difuzních řepných šťávách.

Příprava nutričně hodnotných extrudovaných výrobků z luštěnin

Bc. Markéta Bauerová (ročník M1)

Školitel: Ing. Petra Smrčková, Ph.D.

Luštěniny patří mezi rozsáhlou skupinu rostlin s dlouhou historií konzumace a vysokou nutriční hodnotou. Jsou ceněny pro svůj vysoký obsah rostlinných bílkovin, vlákniny, vitaminů, minerálních a bioaktivních látek. Pravidelná konzumace přispívá ke snížení rizika kardiovaskulárních onemocnění či diabetu 2. typu, mimo jiné díky pomalejšímu průběhu glykemické křivky po jejich konzumaci. Tento efekt je patrný i u extrudovaných výrobků z luštěnin, u nichž nedochází k tak prudkému nárůstu hladiny glukózy v krvi jako u čistě kukuřičných extrudátů, což z nich činí vhodnou potravinu pro regulaci glykémie například u diabetiků 2. typu. Vzhledem k rostoucímu zájmu o rostlinné zdroje bílkovin a udržitelné potravinové systémy se luštěniny stávají atraktivní surovinou pro výrobu výživově hodnotných potravin.

Teoretická část práce se zaměřuje na přehled složení a nutričního významu luštěnin, jejich technologických a funkčních vlastností a na možnosti využití extruze jako moderní metody zpracování. Pozornost je věnována i změnám fyzikálně-chemických a nutričních parametrů během extruze a potenciálu luštěnin pro vývoj nutričně hodnotných výrobků s nízkým glykemickým indexem.

Exploring the encapsulation potential of Glucan Particles for nucleic acid deliver

Bc. Belén Rocío de Lourdes Otero Alvarado (ročník B3)

Školitel: Ing. Roman Bleha, Ph.D.

Glucan particles (GPs) are porous shells derived from baker's yeast cell walls that can encapsulate and release active pharmaceutical ingredients. They are biocompatible and exhibit macrophage specificity, leading to the activation of the immune system and triggering a faster response. Therefore, they are studied as a potential drug delivery system. This work investigates GPs as carriers for nucleic acids, focusing on DNA encapsulation and their application as oral vaccine carriers in insects (e.g., honeybees). DNA was loaded into GPs by mixing the DNA solution with the particles, followed by sequential washing, drying, and lyophilisation to achieve successful particle loading. The release was measured using a fluorescence spectrophotometer. The measurement confirmed a gradual and sustained release of DNA over time. Future work will extend the loading protocol to double-stranded RNA for LDHA gene knockdown. The efficiency of the process will be evaluated through the analysis of gene expression, enzymatic activity, immune cell activation, and infection resistance in fruit flies (*Drosophila melanogaster*).

Tepelné a strukturní změny v chlebu během pečení

Bc. Marharyta Zhovnarenko (ročník M1)

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

Práce shrnuje teoretický pohled na fyzikálně-chemické procesy probíhající při pečení chleba a jejich vliv na kvalitu chleba. Bude popsán vliv transportu tepla v peci a v těstě a bude diskutována jeho úloha při procesech spojených s pečením, např. objemové expanzi a vzniku pevné porézní struktury. Detailněji budou diskutovány děje mazovatění škrobu a denaturace bílkovin, jež ve finálním výrobku způsobují tuhnutí těsta a stabilizaci pevné struktury střídy. Součástí práce bude také popis transportu vody uvnitř pečeného kusu, vliv odpařování a distribuce vlhkosti uvnitř pečeného kusu, což má následně vliv na texturu, tuhost střídy a trvanlivost chleba.

Zmíněny budou také reakce vedoucí k tvorbě sensoricky významných látek, které se podílí na charakteristické chuti a vůni a barvě kůrky chleba. Pozornost je věnována mechanismům vedoucím k vývoji kůrky, včetně barevných změn důležitých pro sensorickou přijatelnost výrobku.

Reformulace čokolády kokrystaly lipofilních vitaminů

Bc. Julie Trousilová (ročník M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Čopíková, CSc.

V rámci práce je zkoumána inovativní technologie zvaná kokrystalizace, která se využívá pro zlepšení chemicko-fyzikálních vlastností některých látek. Důraz je kladen na kokrystaly obsahující lipofilní vitaminy a jejich zlepšení stability a rozpustnosti právě díky kokrystalizaci. Kokrystalizace je prozatím využívána pouze ve farmaceutickém průmyslu, proto je zvláštní pozornost věnována možnosti jejich použití také v průmyslu potravinářském. Konkrétně možnosti aplikace kokrystalů s vhodnými lipofilními vitaminy do čokolády. Lipofilní vitaminy jsou esenciální živiny, které hrají nezastupitelnou roli v mnoha metabolických procesech lidského organismu. Jejich dostatečný příjem je nezbytný pro růst, vývoj a správnou funkci buněk. Přispívají k udržení zdraví kostí, kůže, očí a celkového imunitního systému. Nedostatečný příjem těchto vitaminů je stálým problémem většiny populace, proto je zapotřebí je doplňovat nejenom skrze běžnou stravu, ale také pomocí doplňků stravy a obohacených potravin, k jejichž přípravě může přispět právě technologie kokrystalizace.

Vývoj cereální směsi pro výrobu chleba se zvýšenou nutriční hodnotou

Bc. Olga Martynková (ročník M1)

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

Většina cereálních výrobků se díky vysoké energetické hodnotě a obsahu škrobu řadí mezi potraviny s vysokým glykemickým indexem (GI). Po konzumaci většiny pekařských výrobků dochází k rychlému zvýšení hladiny glukózy v krvi, což v kombinaci se sníženou fyzickou aktivitou, přispívá k rozvoji civilizačních onemocnění, jako jsou obezita, diabetes mellitus 2. typu a kardiovaskulární onemocnění.

Cílem práce je vytvořit cereální směs na přípravu chleba s vysokou nutriční hodnotou a nižším GI se zachováním sensorických vlastností výrobku. Mezi způsoby snížení GI patří zvýšení obsahu vlákniny v sušině a tím relativní snížení obsahu škrobu přidavkem žitné, pohankové nebo cizrnové mouky, dále využití hydrotermické úpravy zrn nebo mouk, fermentace a optimalizace tepelné úpravy.

Ústav mléka, tuků a kosmetiky (322)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.

SEZNAM SEKČÍ

-

Ústav analýzy potravin a výživy (323)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Martina Vlčková

SEZNAM SEKCI

1. Sekce 1
2. Sekce 2
3. Sekce 3

Sekce 1

MÍSTO: B33

KOMISE

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

doc. Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.

doc. Ing. Michal Stupák, Ph.D.

PROGRAM

9:00 **zahájení**

[Bc. Tereza Baslová](#) (Mgr. 2. ročník)

Monitoring těkavých látek s potenciálem negativního účinku na lidský organismus ve vybraných produktech

[Zdenka Beranová](#) (Bc. 3. ročník)

Screening psychoaktivních látek v potravinách na českém trhu

[Bc. Jennifer Dovalová](#) (Mgr. 2. ročník)

Aplikace vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrie v analýze výstřelových zplodin

[Bc. Anna Ďurišová](#) (Mgr. 1. ročník)

Charakterizace profilu nízkomolekulárních látek v proteinových koncentrátech

[Bc. Sabina Hochberg](#) (Mgr. 1. ročník)

Změny opiových alkaloidů v důsledku tepelné zátěže

[Bc. Lucie Horejšová](#) (Mgr. 1. ročník)

Analýza biomarkerů expozice ftalátům a bisfenolům v lidské moči

[Lukáš Janda](#) (Bc. 3. ročník)

Ostropestřec mariánský jako významný zdroj mykotoxinů – možnosti dekontaminace moderními fyzikálními postupy

SPONZOŘI - SEKCE 1



Monitoring těkavých látek s potenciálem negativního účinku na lidský organismus ve vybraných produktech

Bc. Tereza Baslová (ročník M2)

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

Vonné alergenů představují významnou skupinu látek běžně přítomných v kosmetických produktech, jejichž výskyt je regulován nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích. Toto nařízení bylo v roce 2023 aktualizováno nařízením Komise (EU) 2023/1545, které rozšiřuje seznam sledovaných alergenů z původních 26 na 64 jednotlivých chemických látek a řadu přírodních extraktů, a zároveň zpřísňuje požadavky na jejich označování. Vzhledem k tomu, že dosud nebyla publikována komplexní analytická metodika zahrnující tento rozšířený seznam, byla motivací této práce potřeba vyvinout spolehlivý nástroj pro jejich stanovení. Cílem bylo vyvinout a validovat vysoce selektivní a citlivý analytický proces zahrnující plynovou chromatografii s hmotnostní detekcí (GC-MS/MS), který by umožnil kvantifikovat rozsáhlý panel 64 těkavých sloučenin ve spotřebitelských produktech. Vyvinutý analytický postup byl úspěšně validován a dosažené hodnoty výtěžnosti, opakovatelnosti a limitů kvantifikace splňují legislativní požadavky.

Screening psychoaktivních látek v potravinách na českém trhu

Zdeňka Beranová (ročník B3)

Školitel: Ing. František Beneš, Ph.D.

V České republice se stále častěji objevují produkty obsahující psychoaktivní látky, zejména kanabinoidy. Typickými příklady jsou želé bonbóny či jiné potraviny označované jako předměty pro sběratelské nebo technické účely, ačkoliv informace o příchutích a údajných účincích na obalech mohou podněcovat ke konzumaci. Přestože jsou produkty určeny pro osoby starší 18 let, atraktivní vizuální design může oslovit i mladší konzumenty. Často chybí údaje o složení nebo jsou uvedeny nejasně, což ztěžuje kontrolu. Tyto výrobky tak využívají legislativní mezery a mohou představovat závažné toxikologické riziko. Cílem této práce bylo identifikovat a případně kvantifikovat účinné látky ve vybraných produktech. Vzorby byly po extrakci ethanolem analyzovány pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie s tandemovou vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií (UHPLC-HRMS/MS). Analýza potvrdila přítomnost psychotropních kanabinoidů, především Δ^9 -THC a Δ^8 -THC, jejichž koncentrace často dosahovaly stovek až tisíců mg/kg. Evropský úřad pro bezpečnost potravin stanovil akutní referenční dávku (ARfD) Δ^9 -THC na 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ tělesné hmotnosti, tedy 70 μg Δ^9 -THC/den pro osobu o hmotnosti 70 kg. V některých případech by po konzumaci jediného bonbónu nebo jiného výrobku byla tato dávka překročena více než stonásobně. Zjištěné výsledky poukazují na nutnost regulace těchto produktů a na potřebu rutinního sledování dalších izomerů THC, které mohou rovněž představovat zdravotní riziko.

Aplikácia hmotnostnej spektrometrie v analýze povýstrelových splodín

Bc. Jennifer Dovalová (ročník M2)

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

Povýstrelové splodiny sú mikroskopické čiastočky kovov a nekovových častíc vznikajúce pri horení výmetnej náplne, zápalkovej traskaviny a prechodom projektilu hlavnou zbraňou. Delia sa na anorganické (IGSR) a organické (OGSR). Donedávna sa vo forenznej praxi využívala najmä detekcia IGSR, ale dnes sa vyvíja munície bez ťažkých kovov nezaťažujúca životné prostredie a skúmajú sa možnosti využitia detekcie OGSR.

Cieľom tejto štúdie je vývoj a optimalizácia metodiky využívajúcej stery z rúk pre odber OGSR látok pre ich následnú analýzu pomocou hmotnostnej spektrometrie v spojení s kvapalinovou a plynovou chromatografiou. V prvej časti štúdie boli testované rôzne bavlnené materiály (gáza, obväz, textil) a extrakčné nádoby (polypropylénové kvety, laboratórne sklo) na prítomnosť OGSR a ďalších prípadných interferujúcich zlúčenín. Na základe získaných výsledkov bola vybraná gáza pre realizáciu sterov OGSR z rúk strelca v priestoroch strelnice a sklenené skúmavky pre uchovávanie vzoriek a následnú extrakciu. V rámci úvodnej časti štúdie bolo testovaných 6 rôznych zbraní a celkovo 9 druhov munície. Cielená analýza ukázala prítomnosť difenylamínu v steroch po výstrele v rozsahu od LOQ (1 ng/g) do 1120 ng/g. Cielený screening 62 OGSR preukázal prítomnosť 20 zlúčenín špecifických pre OGSR.

Charakterizace profilu nízkomolekulárních látek v proteinových koncentrátech

Bc. Anna Ďurišová (ročník M1)

Školitel: Ing. Beverly Hradecká, Ph.D.

Alternativní zdroje proteinů a vysokoproteinové produkty jsou moderním trendem v lidské výživě. Pro výrobu proteinových koncentrátů lze využít i vylisky odpadající při zpracování řepky. Problémem při použití těchto produktů může být ale nepříjemná chuť a vůně (tzv. off-flavor) způsobené ko-izolovanými sekundárními metabolity, zejména fenolickými sloučeninami, nositeli hořké a trpké chuti. V této práci byly k dispozici vzorky vylisků řepky odtučněné nejenom (klasicky) extrakcí hexanem, ale i pomocí 2-methyloxolanu, ekologicky šetrného („zeleného“) rozpouštědla. Pro zhodnocení stupně odstranění nežádoucích fenolických látek uvedenými rozpouštědly byly meziprodukty výrobního procesu analyzovány pomocí UHPLC-HRMS/MS. Naměřená data byla vyhodnocena softwarem MZmine za využití online knihoven produktových spekter. Pro ověření statisticky významných rozdílů mezi vzorky byl aplikován neparametrický Kruskal-Wallisův test s následnými post hoc testy.

Změny opiových alkaloidů v důsledku tepelné zátěže

Bc. Sabina Hohberg (ročník M1)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Opiové alkaloidy (OA) jsou sekundárními metabolity máku setého (*Papaver Somniferum* L.). Vyskytují se v makovině a latexu máku a při sklizni kontaminují povrch semen. Obsah OA v semenech a pekařských výrobcích je v České republice regulován legislativou (Nařízení komise (EU) 915/2023). Jejich chování během tepelného zpracování a míra toxicity jejich degradačních produktů je však stále neznámá. Cílem této práce bylo zjistit, jak se obsah OA po tepelné zátěži změní. Byly upečeny muffiny s příměsí technické makoviny a pomocí HPLC-HRMS byly sledovány cílové OA. V některých vzorcích vzrostl obsah thebainu a laudanosinu, předpokládáme, že k jejich vzniku dochází teplem indukovanou transformací retikulinu. Přítomnost tohoto OA byla ve vzorcích makoviny prokázána při následném screeningu spolu s dalšími minoritními sekundárními metabolity této skupiny (narkotolin, corytuberin a narcein). Výzva pro navazující výzkum je identifikace nejenom prekurzorů, ale i degradačních produktů opiových alkaloidů, což by mohlo, mimo jiné, objasnit i pokles papaverinu pozorovaný v tepelně zpracovaných vzorcích.

Analýza biomarkerů expozice ftalátům a bisfenolům v lidské moči

Bc. Lucie Horejšová (ročník M1)

Školitel: doc. Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.

Ftaláty a bisfenoly jsou častá aditiva plastů, která se snadno uvolňují do prostředí, a proto jsou považovány za všudypřítomné environmentální kontaminanty. Dietární expozice člověka kontaminovaným potravinám, kam tyto látky migrují např. z plastových obalů, je spojena se zdravotními riziky. V této práci byly analyzovány metabolity ftalátů, bisfenolů a alternativního změkčovadla DINCH (di-isononylcyklohexan-1,2-dikarboxylát) v moči pro posouzení expozice. Vzorky (n=40) byly enzymaticky hydrolyzovány β -glukuronidázou za účelem uvolnění cílových látek z vázaných forem. Pro stanovení bisfenolů byly vzorky přečištěny pomocí extrakce na pevnou fázi. Zpracování vzorku pro stanovení metabolitů ftalátů a DINCH spočívalo v naředění vzorku (tzv. „dilute and shoot“ metoda) a přímé analýze. Instrumentální stanovení bylo provedeno pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS/MS). Ve všech analyzovaných vzorcích byl přítomen bisfenol S (BPS) s mediánem 1,49 ng/ml. U 34 vzorků došlo k překročení jeho referenční hodnoty HBM-GV (Human Biomonitoring Guidance Value) 1 ng/ml, a proto nelze vyloučit možné zdravotní riziko spojené s touto expozicí. Z metabolitů ftalátů byl s nejvyšším mediánem (40,8 ng/ml) detekován monoethylftalát (MEP).

Ostropestřec mariánský jako významný zdroj mykotoxinů – možnosti dekontaminace moderními fyzikálními postupy

Lukáš Janda (ročník B3)

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

Ostropestřec mariánský je bylina známá svými hepatoprotektivními vlastnostmi. Látky v něm obsažené, souhrnně označované jako silymarin, významně napomáhají regeneraci jaterní tkáně, proto jsou doplňky stravy a léčiva na bázi silymarinu považovány za důležitou a nezaměnitelnou součást podpůrné léčby jaterních onemocnění. Mykotoxiny jsou toxické sekundární metabolity mikroskopických vláknitých hub, které mohou znamenat významná zdravotní rizika. Nejčastějšími původci mykotoxinů jsou plísňe rodů *Alternaria* a *Fusarium*. Vzhledem k tomu, že semena ostropestřce mohou být kontaminována v závislosti na podmínkách sklizně a skladování, je nezbytné tomuto riziku jejich vzniku co nejvíce předcházet. K účinným strategiím pro minimalizaci mykotoxinů patří mikrobiální dekontaminace jejich producentů. Hlavním záměrem studie je charakterizovat vliv ošetření semen ostropestřce studenou plazmou a vyhodnotit míru potlačení vzniku mykotoxinů. V první fázi výzkumu však bylo třeba vybrat vhodný experimentální biologický materiál, proto proběhl screening obsahu mykotoxinů ve vzorcích sušených plodů ostropestřce s cílem zhodnotit míru kontaminace těchto produktů. Koncentrace 57 mykotoxinů byly stanoveny metodou ultra-účinné kapalinové chromatografie s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostně spektrometrickou detekcí.

Sekce 2

MÍSTO: B 36

KOMISE

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

prof. Dr. Ing. Jan Poustka

doc. Dr. Ing. Věra Schulzová

PROGRAM

9:00 **zahájení**

[Bc. Veronika Kadečková](#) (Mgr. 1. ročník)

Analýza jahodových džusů a borůvek z hlediska reziduí polárních pesticidů

[Bc. Andrea Kebortová](#) (Mgr. 2. ročník)

Stanovení látek s alergickým potenciálem v kosmetice

[Bc. Adriana Lovus](#) (Mgr. 1. ročník)

Rezidua pesticidů v českých medech

[Bc. Veronika Matoušková](#) (Mgr. 2. ročník)

Vývoj metod pro stanovení reziduí polárních pesticidů v produktech z rostlinných bílkovin

[Bc. Lukáš Nevolný](#) (Mgr. 1. ročník)

Sledování změn v metabolomu hmyzu v závislosti na složení krmného substrátu

[Matěj Pitrák](#) (Bc. 3. ročník)

Inovativní přístupy pro hodnocení dermální expozice člověka ftalátům

[Bc. Lucie Popelková](#) (Mgr. 2. ročník)

Pokročilé metody pro snižování obsahu mykotoxinů v krmivech

SPONZOŘI - SEKCE 2



Analýza jahodových džusů a borůvek z hlediska reziduí polárních pesticidů

Bc. Veronika Kadečková (ročník M1)

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

Drobné červené ovoce, jako jsou jahody a borůvky patří mezi oblíbené druhy ovoce konzumované jak dětmi, tak i dospělými. Tyto plody však velmi rychle podléhají mikrobiální kontaminaci, protože obsahují vysoké množství vody a sacharidů. V současné zemědělské praxi se při jejich běžném pěstování aplikuje široká škála pesticidů, s cílem ochrany rostlin a plodin před nejrůznějšími škůdci a nepříznivými vlivy. Detekce reziduí polárních pesticidů (např. kyseliny fosforité, chlorátu, glyfosátu) je důležitá zejména z hlediska ochrany zdraví člověka, neboť tyto látky mohou představovat riziko hlavně při dlouhodobé expozici. V rámci této studie bylo analyzováno celkem 20 vzorků, z toho 5 vzorků čerstvých kanadských borůvek, 5 vzorků mražených borůvek a 10 vzorků jahodových džusů. Rezidua polárních pesticidů byla ze vzorků extrahována vodou s okyseleným methanolem 1% kyselinou mravenčí. Získané extrakty byly následně analyzovány metodou kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostně spektrometrickou detekcí. Z celkem 11 sledovaných analytů byly detekovány pouze tři – kyselina fosforitá (v 80 %), glyfosát (v 10 %) a chlorát (ve 40 %). Zjištěné koncentrace nepředstavují akutní riziko, ale přítomnost reziduí naznačuje nutnost kontrol a pozornost z hlediska pravidelné dlouhodobé konzumace.

Stanovení látek s alergickým potenciálem v kosmetice

Bc. Andrea Kebortová (ročník M2)

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

Kosmetické výrobky obsahují široké spektrum vonných složek, z nichž některé mohou u citlivých jedinců vyvolávat alergickou kontaktní dermatitidu. Tyto látky, označované jako vonné alergeny, jsou regulovány evropskou legislativou, která stanovuje povinnost jejich deklarace na obalech kosmetických výrobků. Na základě nařízení (EC) č. 2023/1545 byl seznam regulovaných látek rozšířen na 65 chemicky definovaných sloučenin a 14 přírodních rostlinných extraktů. V rámci této práce byla validována metoda pro stanovení 65 vonných alergenů v surovinách pro výrobu kosmetiky (esenciální oleje, hydroláty, bylinné extrakty) pomocí plynové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (GC-MS/MS). Metoda vykazovala výtěžnost 70–120 hm. %, opakovatelnost do 20 hm. % a limity kvantifikace 0,0001–0,0008 hm. % (legislativní limit pro označování 0,001 hm. %). Ve 2 vzorcích esenciálních olejů bylo zjištěno 18 vonných alergenů nad limitem pro označování, s koncentracemi dosahujícími až jednotek hm. %. Tyto výsledky poukazují na opodstatněnost analýzy vonných alergenů v daných typech vzorků, přičemž validovaná metoda představuje spolehlivý nástroj pro jejich detekci a kvantifikaci a tím přispívá k účinné legislativní kontrole jejich obsahu.

Rezidua pesticidů v českých medech

Bc. Adriana Lovus (ročník M1)

Školitel: Ing. Leoš Uttl, Ph.D.

Kontaminace potravin rezidui pesticidů je významné téma současné potravinářské chemie. Pesticidy jsou široce používány při ochraně zemědělských plodin, v důsledku čehož může dojít ke kontaminaci potravin, například medu, který je ceněn pro své nutriční a sensorické vlastnosti. Z tohoto důvodu je důležité sledovat jeho chemickou bezpečnost a ověřovat, zda obsah reziduí nepřekračuje povolené limity. V této práci bylo hodnoceno 70 vzorků českých medů z různých oblastí ČR, získaných v letech 2024 a 2025. Extrakce analytů byla provedena metodou QuEChERS a následná analýza pomocí UHPLC-MS/MS. Použitá analytická metoda byla validována podle dokumentu SANTE/11312/2021v2. Většina vzorků obsahovala detekovatelná množství reziduí pesticidů. Nejčastěji se vyskytovaly acetamiprid, boscalid, azoxystrobin a clopyralid. U několika medů byly detekovány koncentrace reziduí překračující jejich maximální limity (MLR). Získaná data odpovídají poznatkům uvedeným v odborné literatuře. Odlišnosti lze vysvětlit změnami v povolených přípravcích. Studie potvrzuje nutnost pravidelného monitoringu kvality medu a vhodnost metody QuEChERS–UHPLC-MS/MS pro hodnocení jeho chemické bezpečnosti.

Vývoj metod pro stanovení reziduí polárních pesticidů v produktech z rostlinných bílkovin

Bc. Veronika Matoušková ročník (M2)

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

V posledních letech roste zájem o rostlinné zdroje bílkovin, které představují udržitelnou a ekologicky příznivější alternativu k živočišným produktům. Z technologického hlediska totiž často pocházejí z vedlejších produktů zpracování rostlin, jako jsou odtučněné šroty, výlisky z obilovin nebo mouky. Rostlinné proteinové koncentráty a izoláty se získávají z luštěnin, obilovin či olejnin pomocí různých technologických postupů, jejichž cílem je maximalizace výtěžnosti a zachování nutriční kvality. Tyto procesy však mohou vést ke vzniku nebo akumulaci chemických kontaminantů, včetně reziduí polárních pesticidů. Z tohoto důvodu je nezbytné sledovat jejich přítomnost, která může představovat zdravotní riziko, a to nejen ve finálních produktech, ale i ve vstupních surovinách. Experimentální část této práce byla zaměřena na vývoj a optimalizaci extrakčního postupu pro stanovení reziduí polárních pesticidů v různých typech proteinových produktů. Analyty byly následně stanoveny pomocí kapalinové chromatografie s tandemovou hmotností spektrometrií. Vyvinutá metoda byla validována podle požadavků dokumentu SANTE/11312/2021 a splnila kritéria pro výtěžnost (70–120 %) i opakovatelnost (do 20 %) u většiny testovaných kombinací analyt-matrice.

Sledování změn v metabolomu hmyzu v závislosti na složení krmného substrátu

Bc. Lukáš Nevolný (ročník M2)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

Jedlý hmyz je perspektivní nová potravina, která může sloužit jako kvalitní zdroj bílkovin a i některých dalších prospěšných mikronutrientů. V této práci bylo analyzováno 30 vzorků cvrčka banánového (*Gryllus assimilis*). Hmyz byl krmen šrotem, ke kterému byla po různé dlouhou dobu (3 – 60 dní) přidávána mrkev jako zdroj bioaktivních látek. Cílem práce bylo ověřit, jaký vliv má toto obohacení na celkový lipidomický a metabolomický profil. Připravené polární a nepochární extrakty byly vyšetřeny pomocí necílového screeningu metodou UHPLC-HRMS/MS. U nepochárních extraktů byl proveden lipidomický screening, u polárních extraktů byla provedena metabolomická analýza v kombinaci s chemometrickým zpracováním dat. Byly pozorovány změny v obsahu acylglycerolů v závislosti na složení krmiva. Dále byl pozorován transfer některých karotenoidů z mrkve do hmyzí biomasy. Byl detekován i degradační produkt β -karotenu – např. β -apo-8'-karotenal. Na tyto poznatky lze dále navázat studiiemi zkoumajícími vliv jiných obohacujících složek substrátu na zlepšení nutriční hodnoty hmyzu.

Inovativní přístupy pro hodnocení dermální expozice člověka ftalátům

Matěj Pitrák (ročník B3)

Školitel: Ing. Ondřej Pařízek, Ph.D.

Ftaláty, estery kyseliny ftalové, se používají jako změkčovadla plastů a nacházejí se v řadě spotřebních produktech, v kosmetice či obalech. Do kontaktu s nimi denně přicházíme dietárním příjmem, inhalací i dermálním kontaktem, což může při dlouhodobé expozici vést reprodukční toxicitě a hormonální nerovnováze. Studie zahrnovala vývoj a validaci analytické metody pro stanovení 11 zástupců ftalátů ve vzorcích silikonových náramků (SN) a bavlněných ubrousků (BU). Metoda byla aplikována na vzorky SN a BU odebraných ze studie s 21 účastníky, převážně studentů a zaměstnanců VŠCHT. SN byly nošeny nepřetržitě po dobu 7 dní a BU byly používány pro stěry rukou každé ráno po dobu 5 dnů. Cílem této studie bylo vyhodnotit inhalační a dermální expozici lidí ftalátům. Ftaláty byly ze vzorků extrahovány opakovanou extrakcí ultrazvukem směsí rozpouštědel n-hexan:dichlormetan (1:1, v/v). U SN byl navíc zařazen krok SPE přečištění, kde eluce analytů probíhala směsí n-hexan:aceton (1:1, v/v). Analýza byla provedena pomocí plynové chromatografie ve spojení s tandemovou hmotnostní spektrometrií. Ze získaných dat byla vypočtena denní dermální expozice pro SN pro sumu 6 ftalátů v rozsahu 0,15–19,27 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$. Pro denní dermální expozici z BU byla vypočtena v rozsahu 0,003–0,332 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{day}^{-1}$.

Pokročilé metody pro snižování obsahu mykotoxinů v krmivech

Bc. Julie Popelková ročník (M2)

Školitel: Ing. Zbyněk Džuman, Ph.D.

Mykotoxiny představují významný problém v oblasti bezpečnosti krmiv, jelikož jejich přítomnost negativně ovlivňuje zdraví a užitkovost hospodářských zvířat. Cílem této práce bylo studium osudu deoxynivalenolu (DON) a zearalenonu (ZEA) při ingesci a verifikace účinnosti různých adsorbentů mykotoxinů při snižování jejich biologické dostupnosti v krmivech v rámci in vivo studie na myších krmených uměle kontaminovanými krmivy DON a ZEA s přidavkem testovaných adsorbentů. Tyto mykotoxiny i jejich hlavní metabolity – de-epoxy-deoxynivalenol (DOM-1), α -zearalenol (α -ZOL) a β -zearalenol (β -ZOL) byly analyzovány metodou ultra-účinné kapalinové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-HRMS/MS). Výsledky ukázaly rozdílné chování jednotlivých mykotoxinů v organismu. DON, jakožto polární sloučenina, byl vylučován převážně močí, zatímco nepolární ZEA a jeho metabolity byly detekovány především v trusu. V krevní plazmě, játrech a ledvinách byly zjištěny pouze nízké koncentrace DON a DOM-1, což ukazuje na rychlou eliminaci z organismu. Některé adsorbenty prokázaly potenciál účinnosti eliminace ZEA v řádu desítek procent s ohledem na jejich snížené koncentrace v biologických tekutinách oproti kontrole, avšak u DON se tento jev neprokázal.

Sekce 3

MÍSTO: B 159

KOMISE

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

doc. Ing. Vojtěch Hrbek, Ph.D.

Ing. Lucie Drábová, Ph.D.

PROGRAM

9:00 **zahájení**

[Bc. Barbora Prášková](#) (Mgr. 1. ročník)

Hodnocení osudu 'maskovaných' mykotoxinů cereálních potravin pomocí simulovaného gastrointestinálního traktu

[Bc. Štěpánka Syrovátková](#) (Mgr. 1. ročník)

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

[Bc. Barbora Šimáčková](#) (Mgr. 2. ročník)

Monitoring PFAS ve vodním prostředí s využitím pasivních vzorkovačů

[Lucie Šimáková](#) (Bc. 3. ročník)

Ovesné nápoje: hodnocení rizika kontaminace mykotoxiny

[Magdalena Vávrová](#) (Bc. 3. ročník)

Ostropěstřec mariánský - studium vlivu mikrobiální dekontaminace studenou plazmou na profil silymarinových flavonolignanů

[Bc. Ema Vítová](#) (Mgr. 2. ročník)

Hodnocení biologické dostupnosti glykosidů T2 a HT2 toxinu pomocí Caco-2 buněčného modelu

[Bc. Michaela Žurovcová](#) (Mgr. 1. ročník)

Identifikace zdrojů kontaminace jedlého hmyzu chlorovanými parafíny

SPONZOŘI - SEKCE 3



Hodnocení osudu 'maskovaných' mykotoxinů cereálních potravin pomocí simulovaného gastrointestinálního traktu

Bc. Barbora Prášková (ročník M1)

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

Mykotoxiny jsou toxické sekundární metabolity produkované různými druhy vláknitých mikromycet. Mezi nejtoxičtější zástupce patří T-2 toxin (T2) a jeho hlavní metabolit HT-2 toxin (HT2). Kromě volných forem se vyskytují také modifikované formy vznikající konjugací s malými molekulami, zejména glukózou, či zabudováním do polysacharidů prozatím ne zcela objasněnými mechanismy. Zejména toxiny konjugované s polysacharidy představují výzkumnou výzvu, neboť nejsou extrahovatelné ani detekovatelné běžnými metodami, a jejich existence i význam jsou stále velmi podceňovány. Obecným cílem této práce je simulace podmínek gastrointestinálního traktu, a zhodnocení míry uvolnění těchto „maskovaných“ mykotoxinů během procesu trávení. V úvodní části této práce byla provedena inkubace vzorku ovesných vloček se známou koncentrací HT2 a T2 při 37 °C s umělými slinami a žaludeční a duodenální šťávou, a výsledky byly porovnány s výsledky totální enzymové hydrolýzy. Zároveň proběhla optimalizace přípravy vzorků s využitím imunoafinitní chromatografie a metody QuEChERS. Vzorky byly analyzovány pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie s vysokorozlišovací hmotnostně-spektrometrickou detekcí.

Monitoring PFAS ve vodním prostředí s využitím pasivních vzorkovačů

Bc. Barbora Šimáčková (ročník M2)

Školitel: doc. Ing. Darina Dvořáková, Ph.D.

Per- a polyfluoralkylové sloučeniny (PFAS) tvoří rozsáhlou skupinu perzistentních látek, které se díky své chemické stabilitě a odolnosti vůči rozkladu označují jako „věčné chemikálie“. Do životního prostředí se dostávají z průmyslových provozů, čistíren odpadních vod či při používání produktů, které je obsahují. Tato práce se zaměřuje na monitoring PFAS ve vodním prostředí s využitím pasivních vzorkovačů, které umožňují dlouhodobé a kontinuální sledování koncentrací těchto látek. Experimentální část zahrnovala vývoj metody pro izolaci PFAS ze sorbentů WAX (slabě aniontově výměnný) a HLB (hydrofilně-lipofilně vyvážený) a její následnou aplikaci při studiu výskytu těchto látek v povrchových a pitných vodách. Ve vzorcích vstupní i výstupní vody z úpravny byly opakovaně detekovány převážně PFAS s krátkým řetězcem (<C6) v koncentracích 0,1–11 ng/l. Nálezy byly mezi odběry jen mírně odlišné, což ukazuje na stabilní přítomnost těchto látek. U kalibračních vzorků a sorbentů odebíraných týdně se složení PFAS mírně měnilo, avšak jejich celkové množství během čtyř týdnů lineárně rostlo. Výsledky přispívají k lepšímu porozumění chování PFAS ve vodě a mohou pomoci při hodnocení rizik a návrhu účinnějších strategií jejich sledování a regulace.

Ovesné nápoje: hodnocení rizika kontaminace mykotoxiny

Lucie Šimáková (ročník B3)

Školitel: prof. Ing. Jana Hajšlová, CSc.

V posledních letech významně vzrostla obliba rostlinných nápojů vyhledávaných konzumenty jako alternativa mléka. Mezi populární patří i produkty na bázi ovesa, nicméně, stejně jako u jiných potravin, je třeba sledovat jejich mikrobiální a chemickou bezpečnost. V této práci byly ve 25 komerčně dostupných ovesných výrobcích analyzovány mykotoxiny, sekundární toxické metabolity mikroskopických hub, které mohou kontaminovat vstupní surovinu, oves. K analýzám byla využita validovaná metoda ultra-účinná kapalinová chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací tandemovou hmotnostní spektrometrií (U-HPLC-HRMS/MS). Bylo nalezeno celkem 11 různých mykotoxinů a prakticky ve všech vzorcích byly detekovány T-2 a HT-2 toxiny, toxické metabolity plísní rodu *Fusarium*, které často napadají oves. Ve 13 vzorcích byly koncentrace nad LOQ použité metody. U vzorku s nejvyšší hodnotou sumy T-2 a HT-2 by došlo k překročení tolerovatelného denního příjmu (TDI) v případě dítěte o hmotnosti 25 kg již při konzumaci 180 ml nápoje.

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

Bc. Štěpánka Syrovátková (ročník M2)

Školitel: 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 makro a mikroživin a vedle podpory růstu také zvyšuje obranyschopnost rostliny díky obsahu chitinu. Představuje tak možnost nového udržitelného organického hnojiva šetrného k životním prostředí. Vliv hnojení jednotlivými druhy frassu byl sledován na rajčatech. Byla optimalizovaná metoda stanovení karotenoidních barviv a tokoferolů. Pro vlastní stanovení byla aplikována extrakce s využitím alkalické hydrolýzy, která byla validována. Analýza probíhala pomocí HPLC-DAD/FLD. Pro sledování vlivu hnojení na zastoupení dalších biologicky aktivních látek, včetně fenolových látek, je využita metoda fingerprintu. Byla optimalizována metoda extrakce polárních i nepolárních látek, stanovení složek metabolomu je provedeno technikou UHPLC-HRMS/MS. Na základě získaných dat bude provedeno kritické zhodnocení vlivu použitého hnojiva na kvalitu rajčat.

Ostropestřec mariánský – studium vlivu mikrobiální dekontaminace studenou plazmou na profil silymarinových flavonolignanů

Magdalena Vávrová (ročník B3)

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

Ostropestřec mariánský (*Silybum marianum*) je významným zdrojem komplexu flavonolignanů, souhrnně označovaných jako silymarin, které vykazují antioxidační a hepatoprotektivní účinky. Tyto látky se nacházejí především v plodech rostliny, jež jsou zároveň hlavní surovinou pro výrobu doplňků stravy a léčivých přípravků určených k podpoře funkce jater. Plody ostropestřce jsou však často kontaminovány mikroorganismy a mykotoxiny, což může negativně ovlivňovat jejich kvalitu i bezpečnost. Tradiční metody dekontaminace (tepelné či chemické) mohou vést k degradaci bioaktivních látek. Alternativou je proto aplikace studené plazmy, která umožňuje účinnou inaktivaci mikroorganismů bez významného zahřívání materiálu. Cílem práce v dlouhodobém horizontu je sledovat vliv dekontaminace studenou plazmou na profil silymarinových flavonolignanů v plodech ostropestřce. V rámci první fáze tohoto výzkumu byl proveden screening plodů ostropestřce z českého trhu, který umožní výběr vhodného materiálu pro další experimenty. Obsah jednotlivých složek silymarinu byl stanovován pomocí ultra-účinné kapalinové chromatografie s vysoko rozlišovací hmotnostní spektrometrií (UHPLC-HRMS).

Hodnocení biologické dostupnosti glykosidů T2 a HT2 toxinu pomocí Caco-2 buněčného modelu

Bc. Ema Vítová ročník (M2)

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

Mykotoxiny jsou toxické sekundární metabolity mikroskopických vláknitých hub, které patří mezi přírodní kontaminanty v potravinách a krmivech a mohou představovat významná zdravotní rizika. V rostlinách, jako výsledek detoxifikačních mechanismů, vznikají glykosylované mykotoxiny, které se v gastrointestinálním traktu člověka a zvířat hydrolyzují zpět na volné mykotoxiny, čímž se expozice těmito látkami zvyšuje. Tato práce se zabývá hodnocením biologické dostupnosti glykosylovaných forem mykotoxinů T2 a HT2 pomocí ko-kultur Caco-2/HT29-MTX, která představuje zavedený in vitro model lidské střevní bariéry. Úvodní část práce byla zaměřena na optimalizaci postupu přípravy vzorků - buněčných kultivačních médií - s cílem dosáhnout co nejnižšího limitu kvantifikace a vysoké výtěžnosti glykosylovaných forem. Z testovaných postupů se jako nejefektivnější ukázala metoda s vysolením analytů do acetonitrilu a následným zakoncentrováním pomocí odpaření. Metoda byla validována pro T2- α -Glc, T2- β -Glc, HT2- β -Glc, T2, HT2. Výsledný analytický postup byl využit pro prvotní experimentální sledování transportu zmíněných mykotoxinů přes vrstvu ko-kultur Caco-2/HT29-MTX a bude sloužit i pro navazující experimenty.

Identifikace zdrojů kontaminace jedlého hmyzu chlorovanými parafíny

Bc. Michaela Žurovcová (ročník M1)

Školitel: Ing. Jakub Tomáško, Ph.D.

Jedlý hmyz je považován za slibný udržitelný zdroj bílkovin. U každé potraviny je však nutno brát v potaz rizika spojená s kontaminací. V této práci je věnována pozornost chlorovaným parafínům s krátkým a středním řetězcem (SCCP a MCCP), což jsou perzistentní organické polutanty běžně používané jako aditiva v plastech. Cílem této studie je identifikovat a posoudit možné zdroje těchto látek v jedlém hmyzu. V rámci této práce byla validována metoda pro stanovení SCCP a MCCP v hmyzu (*Tenebrio molitor*, $n = 12$), v materiálech (kartonové proložky, $n = 6$) a v prostředí (ovzduší vzorkované na silikonové náramky, $n = 6$), ve kterých je chován. Vzorky hmyzu byly rozděleny na dvě sady pro validaci, k jedné byla přidána hladina standardu CP o koncentraci 50 ng/g vzorku a k druhé 2,5 ng/g vzorku pro SCCP i MCCP. CP ze vzorků hmyzu byly extrahovány ethyl-acetátem. Kartony a náramky byly extrahovány směsí hexan:dichlormethan (1:1, v:v). Vzorky byly následně přečištěny pomocí extrakce na tuhou fázi (SPE) za použití silikagelu jako sorbentu a hladiny CP nakonec měřeny pomocí plynové chromatografie ve spojení s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií s negativní chemickou ionizací (GC-NCI-HRMS) na dvou přístrojích, a to s analyzátozem typu doby letu (TOF) a orbitální iontovou pastí (Orbitrap).

Ústav konzervace potravin (324)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

SEZNAM SEKCI

1. Department of Food Preservation (presentations)

Department of Food Preservation

MÍSTO: B22

KOMISE

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

Ing. Filip Beňo, Ph.D.

Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

PROGRAM

09:00 **zahájení**

09:05 **Bc. Pavel Čakarov** (M2, Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.)

Optimization of Aluminum Can Washing, Decontamination and Surface Treatment

09:20 **Dylan Gartin** (M2, doc. Ing. Rudolf Ševčík, Ph.D.)

Influence of regional origin and compositional attributes on the physicochemical and sensory characteristics of Brazilian coffee

09:35 **Bc. Kayra Hacibeyoğlu** (M2, Ing. Vojtěch Kružík, Ph.D., doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D.)

Determination of Egg Yolk Content in Mayonnaise by Cholesterol and Phosphorus Analysis

09:50 **Bc. Adéla Chmelíková** (M2, Ing. Eva Šviráková, Ph.D.)

Analytical Methods for Chitosan Analysis in Dietary Supplements

10:05 **Bc. Veronika Kropáčková** (M2, Ing. Vojtěch Kružík, Ph.D., doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D.)

Evaluation of Analytical Parameters for the Determination of Egg in Food Products

10:20 **Bc. Pavla Vlková** (M2, doc. Ing. Iveta Hrádková, Ph.D.)

Composition of surface lipids of human skin depending on various factors

10:55 **vyhlášení výsledků**

SPONZOŘI - ÚSTAV KONZERVACE POTRAVIN

MARS WRIGLEY

Optimization of Aluminum Can Washing, Decontamination and Surface Treatment

Bc. Pavel Čakarov

Ročník Studia M2

Školitel Ing. Lukáš Vápenka, Ph.D.

As part of the presentation, we will first introduce the production process of aluminum beverage cans, for which global demand continues to grow, from the aluminum coil to the printed can ready for filling. We will then move on to the production section, where the cans are washed in a washer that is key to the next topics of this presentation. This will be followed by an overview of tests carried out directly on the can washer, aimed at reducing the amount of chemicals required for washing and subsequent surface treatment of the cans. Finally, the presentation will introduce laboratory experiments focused on improving the procedure or interpretation of certain tests used to verify can quality after passing through the washer.

Influence of regional origin and compositional attributes on the physicochemical and sensory characteristics of Brazilian coffee

Dylan Gartin

Ročník studia M2

Školitel Ing. Filip Beňo, Ph.D.

Coffee is among the most widely consumed beverages globally; however, a relatively small proportion of consumers possess detailed knowledge regarding the specific characteristics of their coffee. This study aims to analyse the properties of five coffee samples sourced from five distinct regions of Brazil, in order to ascertain whether the compositional attributes of the coffee and the region of cultivation influence their characteristics and flavour profiles. Multiple experimental procedures were executed to assess various parameters of the coffee samples, and to examine their histological characteristics in accordance with the methodologies delineated in the "Food Analysis book". Sensory evaluation was conducted to determine the impact of sample characteristics on flavour, as judged by a panel comprising 54 participants. Notably, findings indicate that none of the coffee samples met certain commercial impurity standards, and that Arabica is the predominant variety produced in Brazil. These data are instrumental for elucidating consumer awareness regarding coffee consumption and provide valuable insights for companies with respect to consumer preferences in coffee characteristics.



Determination of Egg Yolk Content in Mayonnaise by Cholesterol and Phosphorus Analysis

Bc.Kayra Hacıbeyoğlu

Školitel Ing. Vojtěch Kružík, Ph.D., doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D.

Eggs contribute structure, color, and emulsifying properties to many food products, including oil-in-water emulsions such as mayonnaise. The egg yolk is one of the few substances to contain high concentrations of phospholipid and proteins that stabilize emulsions. Variations in formulation, processing, and/or labeling may result in a difference in the quantitative amount of declared and actual egg content during processing or manufacturing. To understand these differences and to quantify them is important for product authenticity, technology consistency, and consumer trust.

In the research, cholesterol and phosphorus concentrations in mayonnaise were compared to determine egg yolk content in mayonnaise. Cholesterol was measured by gas chromatography (GC) with flame ionization detection (FID) after saponification and hexane extraction. Phosphorus was measured by UV spectrophotometry at 720 nm as the phosphate-molybdate-ascorbic acid reaction. The composition of lipids and phospholipids in the yolk reflects the composition of commercial mayonnaise samples, and differences between measured and declared yolk concentration can be used for identification. Estimation of both cholesterol and phosphorus content can thus be utilized for confirming the egg content of emulsified food products for verifying food quality and safety.

Analytical Methods for Chitosan Analysis in Dietary Supplements

Bc. Adéla Chmelíková

Ročník studia M2

Školitel Ing. Eva Šviráková, Ph.D.

Chitosan is a biologically active polysaccharide produced by the partial deacetylation of chitin. It is non-toxic, biodegradable, and exhibits pronounced antimicrobial properties, which enable its application in the food industry, biotechnology, and healthcare. Various foods, beverages, and dietary supplements containing different amounts of chitosan are available on the European market. Although chitosan is not officially approved as a food additive and has not been assigned an E-number, its content in dietary supplements—classified as so-called novel foods—is subject to legislative declaration. The aim of this study is to analyse chitosan in selected dietary supplements available on the Czech market using appropriate analytical methods. The presence of chitosan was confirmed by Fourier-transform infrared spectroscopy, while quantitative analysis was carried out by gravimetry and two isotachophoretic methods. The most accurate results were obtained using capillary isotachopheresis with conductometric detection. Analysing chitosan in complex dietary supplement matrices is challenging and influenced by multiple factors. The results obtained may be applied in the field of forensic analysis to assess the suitability of analytical methods for detecting and quantifying chitosan.

Evaluation of Analytical Parameters for the Determination of Egg in Food Products

Bc. Veronika Kropáčková

Ročník studia M2

Školitel Ing. Vojtěch Kružík, Ph.D., doc. Ing. Helena Čížková, Ph.D.

Egg products are masses made from egg whites, yolks, or their mixtures after removing shells and membranes. They can be liquid, dried, frozen, concentrated, or coagulated and often contain additives that improve shelf life and functionality, such as sugar or salt. They are used in the production of mayonnaise, pasta, bakery products, ice cream, and liqueurs. The aim of this work is to verify available methods for determining egg content in these products. Although qualitative parameters are clearly defined, no unified standard exists for quantifying egg content. Accurate determination is crucial from technological, economic, and legislative perspectives - for product authentication, consumer and producer protection, and maintaining consistent quality. Two main markers are used: phosphorus and cholesterol. Phosphorus is determined spectrophotometrically through the reaction of phosphates with molybdate and ascorbic acid at 720 nm, while cholesterol is analyzed by gas chromatography with FID detector after saponification and hexane extraction. Whole eggs, dried whole eggs, pasta and noodles were analyzed to verify the declared egg content.

Composition of surface lipids of human skin depending on various factors

Bc. Pavla Vlková

Ročník studia M2

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

Human skin is a vital organ that forms a physical barrier protecting the body from external influences such as microorganisms, chemicals, and UV radiation. The skin consists of several layers of cells with different functions, as well as lipids and sebum. The main lipids of the basal layer include ceramides, free fatty acids, cholesterol, and its derivatives. Skin sebum contains triacylglycerols, diacylglycerols, free fatty acids, squalene, wax esters, cholesterol, and its derivatives.

The composition of skin lipids depends on external and internal factors. External factors include contact with chemicals (e.g., cosmetics), pollutants, and climate. Internal factors include age, gender, ethnicity, skin type, genetics, sebum production, and the natural microflora. Disruption of skin lipids can lead to diseases such as atopic dermatitis, acne, and psoriasis. Understanding skin lipid composition and the factors that affect it is essential for developing better treatments for skin disorders.

The analysis of fatty acid composition, cholesterol, and squalene content using GC-FID was performed on samples from female volunteers aged 20–25 years.

Ústav chemie přírodních látek (342)

ÚSTAVNÍ KOORDINÁTOR

Ing. Jakub Zýka, Ph.D.

SEZNAM SEKCI

1. Ústav chemie přírodních látek – syntéza
2. Ústav chemie přírodních látek – analýza

Ústav chemie přírodních látek – syntéza

MÍSTO: RESPIRIUM

KOMISE

doc. Dr. Ing. Ivan Raich

Ing. Petr Štěpánek, Ph.D., MBA

Ing. Ondřej Šimák, Ph.D.

PROGRAM

9:00 **zahájení**

Bc. Lenka Bendová (Mgr. 2. ročník)

Acyklická glykomimetika pro inhibici galektinů

Bc. Adam Beniš (Mgr. 2. ročník)

Syntéza analogů methoxfenidinu

Bc. Viktorja Brhlová (Mgr. 2. ročník)

Thiolenová strategie syntézy glykomimetik pro inhibici galektinů

Bc. Filip Cesar (Mgr. 2. ročník)

Syntéza nových aktivátorů enzymu NMNAT2

Bc. Maxim Pljaskov (Mgr. 2. ročník)

Deriváty triterpenoidů ursanového a olenanového typu s potenciálem praktického využití

Bc. Karolína Šejstalová (Mgr. 2. ročník)

Metalochelatační lipidy pro konstrukci liposomálních formulací

Bc. Kateřina Žďárková (Mgr. 2. ročník)

*Příprava a charakterizace BODIPY značených kolchicinů a jejich biologická
evaluace*

SPONZOŘI – ÚSTAV CHEMIE PŘÍRODNÍCH LÁTEK

ELEViA[®]

 **APIGENEX**

 **Altium**

vesmír

L'ORÉAL

MERCK

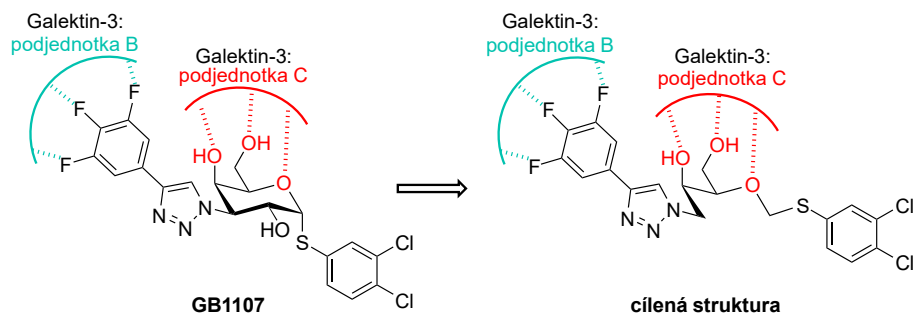
Acyklická glykomimetika pro inhibici galektinů

Bc. Lenka Bendová

M2

Školitel: Ing. Jakub Zýka, Ph.D.

Glykomimetika jsou syntetická analoga sacharidů připravovaná s cílem zlepšit nebo modulovat jejich interakce s makromolekulami, které váží sacharidy a současně zlepšit jejich farmakologické vlastnosti¹. Napodobují klíčové strukturní a funkční vlastnosti sacharidů a tato schopnost je využívána při vývoji inhibitorů galektinů, tedy látek schopných kompetitivně obsadit vazebné místo galektinu a tím blokovat jeho interakci s přirozenými ligandy. Pro dosažení účinné inhibice není nezbytné zachovat celou oligosacharidovou strukturu – často postačuje pouze fragment, například mono- či disacharid, nebo dokonce nesacharidový skelet, který zachovává důležité vazebné interakce. **(Obr. 1)** Cílem mé práce je připravit acyklická glykomimetika pro inhibici galektinů. Při návrhu inhibitorů je klíčové nalézt rovnováhu mezi flexibilitou a optimalizovanou orientací funkčních skupin². Rozdíly v celkové entropii molekuly vyplývají především z konformační dynamiky galektinu. Vyšší flexibilita zvyšuje entropii, ale často oslabuje entalpické interakce, zatímco rigidnější ligandy vykazují opačný trend.



Obr. 1: Porovnání interakce s Galektinem-3 známého inhibitoru GB1107 a cílené struktury.

1. Leusmann, S.; Měnová, P.; Shanin, E.; Titz, A.; Rademacher, C. Glycomimetics for the inhibition and modulation of lectins. *Chem. Soc. Rev.* **2023**, 52 (11), 3663-3740.
2. Prouza, V.; Zýka, J.; Kozák, J.; Magdolenová, A.; Pohl, R.; Parkan, K. The Evaluation of Glycerol C3-Azoly-Thiogalactosides as Galektin-1 and Galektin-3 Ligands. *ChemMedChem* **2025**, 20 (6), e202400826.

Syntéza analogů methoxfenidinu

Bc. Adam Beniš

M2

Školitel: Ing. Bronislav Jurásek, Ph.D.

Methoxfenidin (MXP) je látka z třídy 1,2-diarylethylaminů a je farmakologicky podobná ketaminu. Působí mechanismem nekompetitivní inhibice *N*-methyl-D-aspartátových (NMDA) receptorů v centrální nervové soustavě, kde tyto vápenaté kanály hrají klíčovou roli v excitatorním synaptickém přenosu, procesech učení a paměti. Kromě anestetického a disociativního účinku je u těchto látek významný rychle působící antidepresivní účinek, který je potenciálně přínosný pro použití u depresivních pacientů se zvýšeným rizikem suicidálních tendencí. Cílem této práce je syntéza analogů MXP vycházející z multikomponentní reakce dříve použitou pro syntézu analytických standardů MXP. V první části práce bylo připraveno 8 analogů MXP použitím multikomponentní reakce. Další část práce se zabývá optimalizací této reakce pro citlivější nebo reaktivnější výchozí látky, díky čemuž byly připraveny další 3 analoga. Z methoxy analog byly také připraveny jejich příslušné demethylované deriváty, které jsou zároveň metabolity původních látek. Těmito přístupy bylo celkem připraveno 13 analogů MXP, které budou nadále sloužit pro studium receptorových interakcí a pro in vivo studium farmakokinetiky.

Thiolenová strategie syntézy glykomimetik pro inhibici galektinů

Bc. Viktorija Brhlová

M2

Školitel: Ing. Jakub Zýka, Ph.D.

Galektiny představují rodinu savčích lektinů schopných vázat sacharidy. Podílejí se na buněčné signalizaci, adhezi a imunomodulaci, přičemž zvýšená exprese galektinů-1 a -3 je spojována s rozvojem nádorových a fibrotických onemocnění. Recentní studie ukázaly, že některé syntetické α -thiogalaktosidy vykazují vyšší afinitu k vazebným místům galektinů než jejich β -anomerní protějšky a představují slibné inhibitory. Cílem práce bylo představit moderní přístupy k syntéze thiogalaktosidů. Popsaná metoda využívá fotoindukovanou thiol-enovou adici aktivovanou organickým fotoredoxním katalyzátorem. Reakce je založena na tvorbě thylradikálu a jeho adici na dvojnou vazbu glykalového substrátu, což umožňuje α -stereoselektivní syntézu bez potřeby chránících skupin.

Syntéza nových aktivátorů enzymu NMNAT2

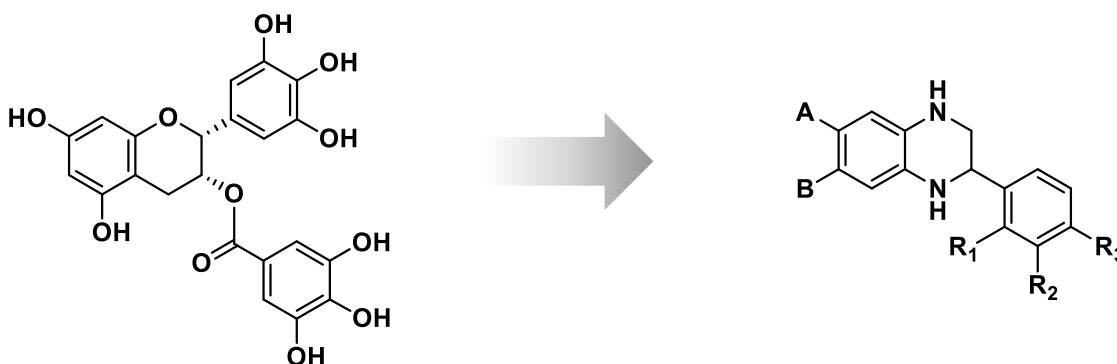
Bc. Filip Cesar

Ročník studia: M2

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

Glaukom představuje vážnou hrozbu pro zdraví očí, celosvětově postihuje přibližně 80 milionů pacientů, a možnosti jeho léčby jsou omezené. V předchozích studiích bylo zjištěno, že přírodní látka epigallokatechin gallát (EGCG) má neuroprotektivní vlastnosti, kterých dosahuje stimulací biosyntézy nikotinamidadeninukleotidu (NAD) skrze indukci nikotinamidmononukleotid-adenylyltransferázy 2 (NMNAT2). Tento enzym hraje zásadní roli v biosyntéze NAD prostřednictvím několika biosyntetických drah. SAR (*structure activity relationship*) studie, založená na EGCG a jednodušších derivátech, naznačila, že sloučeniny založené na struktuře 1,2,3,4-tetrahydrochinoxalinu jsou účinnými induktory NMNAT2. Tyto sloučeniny tak mají potenciál působit jako neuroprotektivní látky.

V současné práci byly syntetizovány nové deriváty 1,2,3,4-tetrahydrochinoxalinu a využity k vyhodnocení jejich biologické aktivity, metabolické stability a k dalšímu studiu vztahů mezi strukturou a aktivitou.



- (1) Tribble, J.R., Jöe, M., Varricchio, C. *et al.* NMNAT2 is a druggable target to drive neuronal NAD production. *Nat Commun* **15**, 6256 (2024)
- (2) Tribble, J.R., Hagström, A., Jusseaume, K. *et al.* NAD salvage pathway machinery expression in normal and glaucomatous retina and optic nerve. *acta neuropathol commun* **11**, 18 (2023).

Deriváty triterpenoidů ursanového a olenanového typu s potenciálem praktického využití

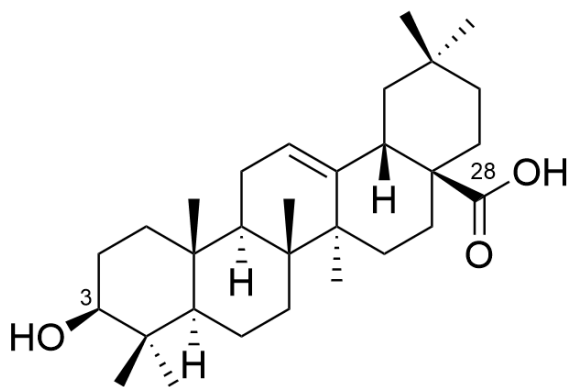
Bc. Maxim Pljaskov

M2

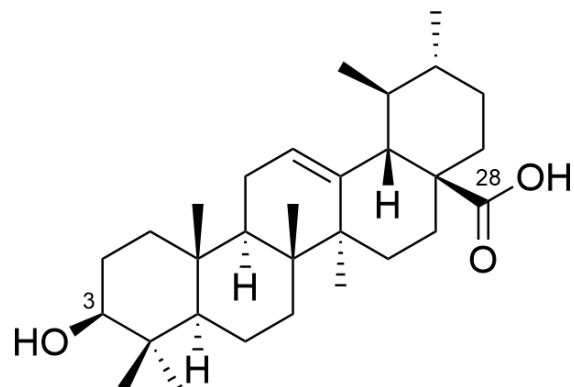
Školitel: prof. Ing. Zdeněk Wimmer, DrSc.

Triterpenoidy hrají významnou roli v obranyschopnosti rostlin, což pravděpodobně souvisí i s jejich mimořádně širokým farmakologickým profilem. Cílem prezentované práce je syntéza C-28 amidových derivátů oleanolové a ursolové kyseliny s chráněnou i volnou hydroxylovou skupinou v poloze C-3. Jako aminové složky byly použity ethylendiamin, piperazin a homopiperazin, na něž byl následně, s využitím volné aminoskupiny meziprojektu, navázán valin nově syntetizovanou amidovou vazbou. Každá série syntéz tak poskytuje dva deriváty, s hydroxylovou skupinou na C-3 účelově chráněnou převedením na acetát a s volnou hydroxylovou skupinou na C-3. Tyto sloučeniny jsou považovány za finální produkty a budou dále testovány *in vitro* na cytotoxicitu a antimikrobiální aktivitu.

Struktura a čistota všech připravených látek byla ověřena pomocí hmotnostní spektrometrie (MS), nukleární magnetické rezonance (NMR) a infračervené spektrometrie (IČ).



oleanolová kyselina



ursolová kyselina

Metalochelatační lipidy pro konstrukci liposomálních formulací

Bc. Karolína Šejstalová

M2

Školitel: Ing. Roman Effenberg, Ph.D.

Liposomy patří mezi perspektivní nanonosiče využívané pro cílené doručování léčiv a vakcín. Cílem této práce bylo vyvinout metalochelatační lipidy umožňující navázání proteinů nebo vizualizaci částic prostřednictvím kovových iontů. Byly připraveny lipidové deriváty nesoucí chelatační skupinu NTA (nitrilotriacetovou kyselinu) a DTPA (diethylentriaminpentaoctovou kyselinu). Pro ověření konceptu byly nejprve testovány komerčně dostupné chelatační lipidy, z nichž byly připraveny liposomy metodou hydratace lipidového filmu a extruze. Následně byla měřena schopnost vazby fluorescenčních proteinů na povrch liposomů. Velikost a stabilita liposomů byla určena metodou dynamického rozptylu světla (DLS). Úspěšnost vazby proteinů byla stanovena pomocí gelové permeační chromatografie. V další fázi budou testovány vlastnosti liposomů formulovaných se syntetizovanými lipidy a jejich schopnost vázat proteiny s histidinovou kotvou.

Příprava a charakterizace BODIPY značených kolchicinoidů a jejich biologická evaluace

Bc. Kateřina Žďárková

M2

Školitel: Ing. Michal Jurášek, Ph.D.

Přírodní látky představují významný zdroj inspirace pro vývoj nových léčiv. Kolchicin, tricyklický alkaloid z hlíz rostliny *Colchicum autumnale*, se v současnosti využívá zejména při léčbě dny a terapii familiární středomořské horečky. Mechanismus jeho účinku spočívá ve vazbě na α - β heterodimery tubulinu, což vede k jejich depolymerizaci a inhibici tvorby mikrotubulů, následkem čehož dochází k blokaci buněčného dělení. Takový způsob účinku naznačuje, že terapeutické využití kolchicinu by mohlo být daleko širší. Vysoká toxicita však brání jeho použití jako karcinostatika, a proto je pozornost výzkumu zaměřena na vývoj derivátů s nižší toxicitou a vyšší účinností.

Fluorescenční značení kolchicinoidů pomocí BODIPY barviv umožňuje vizualizaci jejich subcelulární distribuce a biologické aktivity. Cílem této práce byla syntéza kolchicin-BODIPY (CB) derivátů pomocí Huisgenovy cykloadice (CuAAC) mezi 7-azido-7-deacetamidokolchicinem a terminálně alkynylovanými BODIPY barvivou, při níž vzniká triazolový spojovací můstek. Připravené sloučeniny byly testovány z hlediska základní biologické aktivity.

Ústav chemie přírodních látek – analýza

MÍSTO: RESPIRIUM

KOMISE

prof. Dr. RNDr. Oldřich Lapčík

Ing. Jakub Kaminský, Ph.D.

Ing. Matěj Malík, Ph.D.

Petr Moravec (Elevia)

PROGRAM

9:00 **zahájení**

Bc. Evelína Čížková (Mgr. 2. ročník)

*Stanovení biologicky aktivních látek pupečníku asijského (*Centella asiatica* (L.) Urb.)*

Andrea Hrušková (Bc. 3. ročník)

Stanovení alkaloidů kratomu v séru metodou HPLC-MS/MS

Bc. Maria Kučerková (Mgr. 2. ročník)

Studium farmakokinetiky cykloastragenolu v mozkové tkáni

Lucie Rákošová (Bc. 3. ročník)

Stanovení alkaloidů kratomu v lidských slinách metodou HPLC-MS/MS

Bc. Tobiáš Skýpala (Mgr. 2. ročník)

Stanovení etodesnitazenu a vybraných metabolitů v potkaním séru metodou HPLC-MS/MS

Bc. Ondřej Šlachta (Mgr. 2. ročník)

Izolace vybraných sekundárních metabolitů rostliny Mesembryanthemum tortuosum

Bc. Zuzana Turková (Mgr. 2. ročník)

Stanovení etodesnitazenu a vybraných metabolitů v potkaním mozku metodou HPLC-MS/MS

SPONZOŘI – ÚSTAV CHEMIE PŘÍRODNÍCH LÁTEK

ELEViA[®]

 **APIGENEX**

 **Altium**

vesmír

L'ORÉAL

MERCK

Stanovení biologicky aktivních látek pupečníku asijského (*Centella asiatica* (L.) Urb.)

Bc. Evelína Čížková

M2

Školitel: PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.

Centella asiatica (L.) Urb. je adaptogenní rostlina pocházející z jihovýchodní Asie. Již po staletí je užívána v tradiční čínské a indické medicíně především pro své hojivé, antidepressivní, kardioprotektivní, protizánětlivé a antioxidační účinky. Tyto účinky jsou podmíněné přítomností látek ze skupiny triterpenoidů, polyfenolů a fytosterolů. Mezi hlavní obsahové látky patří kyselina asijská, madekassová a jejich glykosidy asiaticosid a madekassosid. Cílem této práce je vyvinout HPLC-MS/MS metodu pro stanovení těchto triterpenoidních látek a využít již vyvinuté metody pro určení obsahu polyfenolů a fytosterolů v potravinových doplňcích (tinktury, kapsle, bylinné směsi) obsahující rostlinu *Centella asiatica*, které jsou dostupné na českém trhu. V rámci vývoje metody jsem vyzkoušela vliv různých mobilních fází a sestavila gradient mobilních fází A a B, umožňující separaci všech čtyř uvedených triterpenoidů během 6 minut. Výsledky HPLC-MS/MS analýz jsou podpořeny spektrofotometrickými metodami pro stanovení celkového obsahu saponinů a stanovení antioxidační aktivity. Výstupem práce je porovnání jednotlivých produktů jak z hlediska obsahových látek, tak i jejich antioxidačního potenciálu.

Stanovení alkaloidů kratomu v séru metodou HPLC-MS/MS

Andrea Hrušková

B3

Školitel: PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.

Mitragyna speciosa Korth., také známá jako kratom, je vždyzelený strom z čeledi Rubiaceae. Do povědomí se tato rostlina dostala díky svým účinkům, které jsou silně závislé na dávce. Při nižších dávkách působí jako stimulant, čímž může zlepšovat soustředění a produktivitu. Naopak při dávkách vyšších má stejně jako opioidy sedativní a analgetický účinek. V těle působí na opioidní, adrenergní a serotonergní receptory.

Zpracovávají se především listy kratomu, které jsou distribuovány například ve formě prášku (usušené a namleté listy), nebo jako koncentrované extrakty. Zatím bylo identifikováno přes 40 různých alkaloidů kratomu, z nichž nejhojněji zastoupené jsou – mitragynin, paynanthein, speciociliatin a speciogynin. Velmi účinným alkaloidem je také 7-hydroxymitragynin, který se však v kratomu vyskytuje pouze v malém množství. Jelikož se jedná o psychoaktivní rostlinu, je vhodné mít k dispozici analytickou metodu pro prokázání užití kratomu.

Cílem této práce je vývoj HPLC-MS/MS metody pro stanovení alkaloidů kratomu v krevním séru. Postup přípravy vzorků je optimalizován tak, aby bylo dosaženo co nejvyšší extrakční účinnosti a analýza byla zároveň co nejméně ovlivněna matricí.

Studium farmakokinetiky cykloastragenolu v mozkové tkáni

Bc. Maria Kučerková

M2

Školitel: PharmDr. Cihlářová Petra, Ph.D.

Tato práce se zabývá studiem farmakokinetiky cykloastragenolu po podání liposomálních nanočástic potkanům, a to s využitím vysokoúčinné kapalinové chromatografie spřažené s hmotnostní spektrometrií (UHPLC-MS)

Cykloastragenol (CAG) se řadí mezi triterpenické sapogeniny s rozsáhlou biologickou aktivitou. Vyskytuje se například v rostlinách rodu kozinec (*Astragalus* sp.). Jedná se o prozatím jediný prokázaný přírodní aktivátor telomerázové aktivity. Právě díky tomuto účinku je uvažováno o budoucím využití CAG v podpůrné terapii neurodegenerativních, autoimunitních i nádorových onemocnění. Studie zabývající se účinky CAG se potýkají s problémem jeho nízké biologické dostupnosti. K navýšení biologické dostupnosti je možné využít transportní částice, například liposomy. V Národním ústavu duševního zdraví bylo potkanům kmene Wistar orálně a intraperitoneálně aplikováno 0,1 mg kg⁻¹ CAG s cílem stanovit jeho přibližnou kinetiku v mozkové tkáni.

V práci jsem se nejprve zaměřila na vývoj a následnou validaci metody pro zpracování mozkové tkáně. Jako postup zpracování jsem vybrala precipitaci proteinů acetonitrilem spojenou s vysolováním vybranými solemi. Takto zpracované reálné vzorky byly analyzovány předem vyvinutou metodou UHPLC-MS. Ze získaných dat jsem sestrojila odpovídající farmakokinetické profily cykloastragenolu podaného ve dvou velikostech liposomálních formulací. Jako kontroly jsem použila cykloastragenol rozpuštěný v oleji a nebo ve směsi s cyklodextrinem.

Výstupem mé práce je porovnání jednotlivých farmakokinetických profilů a zhodnocení prospěšnosti aplikace cykloastragenolu v transportních částicích.

Stanovení alkaloidů kratomu v lidských slinách metodou HPLC-MS/MS

Lucie Rákošová

B3

Školitel: PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.

Mitragyna speciosa Korth., známá jako kratom, je tropický strom pocházející z jihovýchodní Asie, jehož listy obsahují více než 40 biologicky aktivních alkaloidů. Nejvýznamnější z nich, mitragynin a 7-hydroxymitragynin, vykazují stimulační i sedativní účinky. Kratom se tradičně využívá k úlevě od bolesti a únavy nebo jako náhrada opia. Jeho užívání však rychle roste i mimo původní oblasti výskytu, a to navzdory riziku závislosti. Vzhledem k jeho psychoaktivním účinkům je vhodné mít k dispozici analytickou metodu, umožňující prokázání jeho užití. Jednou z možností je stanovení alkaloidů ve slinách.

Cílem práce je vyvinout, optimalizovat a validovat metodu pro stanovení vybraných alkaloidů kratomu v lidských slinách pomocí HPLC-MS/MS. Metoda bude využita k identifikaci a kvantifikaci mitragyninu, 7-hydroxymitragyninu, speciociliatinu, speciogyninu, paynantheinu, corynoxinu, mitraphyllinu a isorhynchophyllinu. Jako optimální postup přípravy vzorků slin byla zvolena precipitace acetonitrilem. Pro samotnou analýzu je využita chromatografická separace za použití stacionární fáze C18 a mobilních fází 10mM mravenčanu amonného s 0,1% kyselinou mravenčí ve vodě a v methanolu. Pro detekci je využit trojitý kvadrupól v tzv. MRM módu s ionizací ESI+.

Stanovení etodesnitazenu a vybraných metabolitů v potkaním séru metodou HPLC-MS/MS

Bc. Tobiáš Skýpala

M2

Školitel: Ing. Bronislav Jurásek, Ph.D.

Etodesnitazen (ETZ) patří mezi nitazeny, skupinu syntetických opioidů, vyznačující se mnohonásobně vyšší účinností než morfin. Účinkem se podobá fentanyl, vykazuje silný analgetický efekt, ale také vysoké riziko závislosti a předávkování, jelikož k tomu stačí pouze mikrogramové množství. Právě s ohledem na jeho toxicitu a rostoucí výskyt je důležité vyvinout spolehlivou analytickou metodu, která umožní jeho stanovení a sledování metabolismu.

Práce se zaměřuje na vývoj a validaci metody pro stanovení ETZ a jeho 3 metabolitů v potkaním séru pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (HPLC-MS/MS). Dané metabolity byly již dříve detekovány v lidské moči a mohou sloužit jako vhodné biomarkery pro sledování užití ETZ. Vzorky potkaních sér byly poskytnuty v rámci behaviorální studie ETZ na potkanech, kterým byl subkutánně podáván ETZ. Pro přípravu vzorků je využita proteinová precipitace okyseleným acetonitrilem, následovaná odpařením a rozpuštěním ve vodném methanolu. HPLC separace byla vyvinuta na reverzní fázi (ZORBAX Eclipse plus C18) s gradientem mobilní fáze 0,1% HCOOH a 10mM HCOONH₄ ve vodě a methanolem. Metoda bude validována dle doporučení Evropské lékové agentury (EMA) pro bioanalytické metody.

Tato metoda se může uplatnit nejen při experimentálním výzkumu, ale také v toxikologické praxi, kde s jejím využitím lze identifikovat a kvantifikovat nové syntetické opioidy v biologických vzorcích.

Izolace vybraných sekundárních metabolitů rostliny Mesembryanthemum tortuosum

Bc. Ondřej Šlachta

M2

Školitel: PharmDr. Petra Cihlářová, Ph.D.

Chronický stres, spojený se současným rychlým životním tempem, vede k rostoucí poptávce po přírodních přípravcích pro jeho zmírnění. Jedním ze zdrojů takových přípravků je jihoafrická rostlina *Mesembryanthemum tortuosum*, známá jako kanna. Alkaloidy v ní obsažené prokázaly antidepresivní, anxiolytické, ale i další biologické účinky naznačující možnosti širšího terapeutického využití. Komerční produkty z kanny jsou v České republice označovány jako sběratelské předměty. Není tak systematicky kontrolována jejich bezpečnost, čistota či obsah účinných a cizorodých látek. Mezi jednotlivými přípravky mohou existovat výrazné rozdíly v kvalitě, účinnosti a předvídatelnosti účinků, což má přímý dopad na uživatele.

Cílem této práce je izolace a purifikace alkaloidů *Mesembryanthemum tortuosum* z rostlinného materiálu. Z připraveného alkaloidového extraktu byly s využitím flash chromatografie a preparativní vysokoúčinné kapalinové chromatografie získány alkaloidy sceletium A4, tortuosamin a alkaloid mesembrinového typu. V ostatních chromatografických frakcích byla potvrzena přítomnost mesembrinu a dalších alkaloidů mesembrinového typu. Po purifikaci a následné charakterizaci budou alkaloidy využity jako analytické standardy pro vývoj HPLC-MS metody, která umožní jejich spolehlivou identifikaci a kvantifikaci v komerčně dostupných produktech, a bude využita pro hodnocení kvality a bezpečnosti těchto přípravků.

Stanovení etodesnitazenu a vybraných metabolitů v potkaním mozku metodou HPLC-MS/MS

Bc. Zuzana Turková

M2

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

Nitazeny patří mezi čím dál častěji zneužívané syntetické opioidy. Od roku 2019 byl hlášen jejich zvýšený výskyt v 21 členských zemích Evropské unie. V roce 2023 zde bylo zadrženo 10 kg těchto látek, v následujících letech bylo zaznamenáno i několik úmrtí. Patří mezi ně i etodesnitazen (ETZ), který je až 70x silnější než morfin a účinkem srovnatelný s fentanylem. To ho řadí mezi látky s vysokým rizikem zneužití a je důležité analyzovat jeho působení v organismu. Cílem této práce je přispět k objasnění farmakokinetiky ETZ a snížit tak rizika spojená s jeho užíváním. Byla provedena studie na potkanech, při které jim byl subkutánně aplikován ETZ v množství 0,25 a 0,5 mg/kg a následně byly kolektovány mozkové tkáně v definovaných časových intervalech. Pro mozkovou tkáň byla paralelně vyvinuta metoda extrakce a kvantifikace ETZ a 3 jeho vybraných metabolitů. Byla použita extrakce kapaliny kapalinou s pomocí vysolení, analyty byly extrahovány do CH_3CN a jejich přestup byl podpořen přidávkem NaCl a Na_2SO_4 . Pro kvantifikaci analytů byla vyvinuta metoda kapalinové chromatografie s tandemovou hmotnostní spektrometrií (HPLC-MS/MS) s mobilní fází tvořenou vodným roztokem 0,1% HCOOH a 10mM NH_4COOH (A) a CH_3OH (B). Tato práce se zabývá extrakcí etodesnitazenu a jeho metabolitů a následným stanovením jejich koncentrací metodou HPLC-MS/MS. Metoda bude validována podle směrnic Evropské lékové agentury a použita pro stanovení farmakokinetických křivek analytů z mozkové tkáně potkanů.

