



RECETOX

Masarykova Univerzita, Přírodovědecká fakulta



EU-DG Research Centre of Excellence for Environmental Chemistry and Ecotoxicology

Luděk Bláha, Ph.D.

docent, vedoucí divize ekotoxikologie RECETOX

Kamenice 126/3, 625 00 Brno, Czech Republic

Tel.: +420 54949 3194, Fax: +420 54949 2840

E-mail: blaha@recetox.muni.cz

<http://recetox.muni.cz/>

OPONENTSKÝ POSUDEK NA BAKALÁŘSKOU PRÁCI

Student: **PETR TOMEK**
(Biologická fakulta, JČU)

Bakalářská diplomová práce: CYTOTOXICITA VLÁKNITÝCH SINIC V NÁVAZNOSTI NA JEJICH EKOLOGII

Předložená práce obsahuje na celkem 49 stranách literární rešerši problematiky toxických cyanobakteriálních metabolitů a dále rozsáhlé praktické experimenty studenta: (1) výsledky hodnocení účinků 53 extraktů připravených z různých kmenů vláknitých sinic na viabilitu dvou nádorových buněčných linií (test cytotoxicity MTT), (2) HPLC analýzy a frakcionace vybraných vysoce aktivních extraktů, (3) preparativní izolaci (HPLC a TLC) vybraných čistých metabolitů pravděpodobně odpovědných za toxické účinky, (4) charakterizaci hlavních iontů přítomných v chromatogramech s pomocí hmotnostní spektrometrie, (5) detailnější charakterizaci toxicity u dvou kmenů stanovením IC50 a studiem kinetiky změn ve viabilitě. Použitá citovaná literatura je neobvykle rozsáhlá a aktuální.

Obsah i zpracování a také formální stránku práce hodnotím velmi vysoko. Z rozsahu a kvalitního a fundovaného popisu prezentovaných výsledků (včetně popisu MS spekter, jejich grafické prezentace a snahy o srovnání získaných výsledků se známými metabolity sinic z literárních údajů) a také z textu diskuze je zřejmé zapálení studenta pro řešený problém a jeho dobrá orientace v problematice. Student zvládnul velké množství chemických i biologických metod s jejichž pomocí získal vynikající výsledky. Práce je podle mého názoru velmi nadstandardní (pro bakalářský projekt) a pokud by byla dotažena teoretická část (viz dole) a rozšířena diskuze, bylo by možno ji považovat za vynikající magisterskou diplomovou práci.

Pro úplnost by bylo dobré v práci (anebo při obhajobě) exaktně uvést jaký byl podíl studenta na jednotlivých krocích a studiích prezentovaných v práci (? optimalizoval student zcela samostatně chromatografické podmínky a podmínky MS a vyhodnocoval spektra a chromatogramy, nebo tuto práci prováděl spolu s konzultanty?).

I přes celkově velmi dobrý dojem z práce se musím ujmout role oponenta a mám **několik připomínek**, které však mají vést spíše k poučení studenta, aby se podobných nedostatků vyvaroval v budoucnu.

1) Obsah odstavců 1.C a 1.D (literární rešerše) je na mnoha místech věcně nepřesný - je zde řada faktických nedostatků a je zde rozebírána celá řada (pro obsah práce zbytečných) biochemických a

molekulárně biologických detailů, které bohužel nebyly studentem přesně pochopeny a byly dezinterpretovány.

- Např. na str. 26 je uvedeno, že "Dochází k proliferaci buněčné membrány" (podobná tvrzení by student těžko obhájil).

- Kromě toho student necituje některé naprosto zásadní práce z poloviny 80.let, které dokonale popisují základní mechanismy působení MC a opřel se o literaturu sice novější, ale s nižším kreditem (konkrétně chybí citace např. těchto prací: Runnegar et al. (1987). Toxicon 25, 1235-1239.; Runnegar and Falconer (1982). South African Journal of Science 28, 363-366. Runnegar and Falconer (1986). Toxicon 24, 109-115.)

- zcela bez kontextu je zde obrázek Paclitaxelu (obr. 16 - jaký má vztah k řešené problematice není v textu zmíněno)

Pro další práci studenta bych doporučoval velmi pečlivě zvažovat každé tvrzení tak, aby ho dokázal "obhájit" (resp. aby dobře porozuměl biologické podstatě tohoto tvrzení) - např. není pravda, že "cílovou organelou microcystinu je mitochondrie" (Citace Ding 2003) - MC ve velmi nízkých koncentracích inhibuje především proteinfosfatázy 1 a 2A (jak je správně uvedeno dále), následkem čeho dochází k obecné hyperfosforylaci buněčných proteinů, což se může kromě jiného projevit apoptotickými projevy, které jsou zde popisovány....

2) Některé drobné připomínky:

- Hodnoty toxicity v tabulce 1 by měly být převedeny na shodné jednotky (jsou využity moly i gramy)

- Str. 5 - nesouhlasím s tvrzením... "vzhledem k tomu, že jsou složeny z netypických D a L aminokyselin se jedná o sloučeniny termostabilní." I jiné malé peptidy složené z typických L-aminokyselin jsou termostabilní.

- Str. 5 - Nodularia není planktonní sinice.

- Str. 6 - "nulová toxicita microcystinu" neexistuje - již Paracelsus věděl, že "dávka je rozhodující" - navíc nové práce ukazují, že toxicita MC se nemanifestuje jen v hepatocytech...

- citace prací v textu považuji za nestandardní (používání jen prvních jmen autorů a roku v [hranatých závorkách])

- doporučoval bych v textu použít pouze označení "Obr."/obrázek (pro všechny obrázky a grafy) a "Tab." /tabulka a vyhnout se označení "Graf" (zvláště v případech hmotnostních spekter nejde o "grafy")

- str. 26 u Nostoc muscorum je při diskuzi hmotnostních spekter odkazováno na graf. 12 (správně má být graf. 14)

Na studenta mám následující dotazy do diskuze při obhajobě:

- Potvrzuje metoda MS založená na identifikaci molekulových iontů skutečně chemickou identitu suspektních látek (např. Graf 7a nostoginin)? Nebo by pro definitivní potvrzení bylo nutné použít další metody? Jaké například?

Celkové shrnutí

Předložená bakalářská diplomová práce prezentuje kompletní, kvalitní a nové experimentální výsledky - celkově je po věcné i formální stránce na vynikající úrovni. Student přesvědčivě splnil všechny zadané cíle. Připomínky oponenta neovlivňují celkovou vysokou úroveň práce. Diplomovou práci Petra Tomka jednoznačně doporučuji k obhajobě a vyžaduje-li to studijní řád univerzity, doporučuji ji (v případě úspěšné obhajoby) hodnotit stupněm "výborně".

Luděk Bláha

Brno, 23.5.2007