

**Vyjádření školitele k disertační práci Mgr. Pavla Hrouzka
“Cytotoxicity and secondary metabolites production in cyanobacteria“**

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Biologická fakulta**

V posledních letech neustále stoupá zájem o autotrofní mikroorganismy (řasy a sinice) z hlediska možností využití jejich obsahových látek. V odborné literatuře byl popsán výskyt celé řady sekundárních metabolitů jenž mohou být zdrojem farmakologicky velmi zajímavých látek s širokou škálou biologických aktivit (antibakteriálních, antivirových, cytostatických, algicidních apod.). Do tohoto schématu též plně zapadají látky vykazující obecně cytotoxickou aktivitu prokázanou na buněčných liniích savčích buněk.

Výchozí částí práce bylo testování cytotoxického efektu extraktů řas a sinic na dvou liniích savčích buněk (YAC-1, Sp/2) pomocí MTT testu a u aktivních extraktů též pomocí imunofluorescenčního značení. Na základě tohoto primárního screeningu byl pro další experimenty vybrán pouze nejaktivnější kmen sinice *Cylindrospermum* sp. C24/1989. Pro obě aktivní látky produkované tímto vybraným kmenem byly vypracovány izolační postupy. Nalezení a izolace těchto látek byly nezbytné pro splnění hlavního cíle této práce, který byl definován jako získání aktivní frakce s následnou identifikací aktivní látky *in vitro* na výše uvedených liniích savčích buněk a stanovení chemické struktury pomocí různých instrumentálních technik (HPLC-DAD-MSⁿ, NMR). Dalšími dílčími úkoly bylo popsat genetickou (sekvence 16SrDNA) a morfologickou variabilitu studovaných kmenů sinic včetně korelace výskytu toxických látek, morfologie a fylogenetické příbuznosti vybraných kmenů. Posledním úkolem byla také optimalizace kultivačních podmínek u vybraného produkčního kmene *Cylindrospermum* sp. C24/1989.

Modelové laboratorní pokusy ve všech výše zmíněných oblastech přinášejí nové poznatky o výskytu, biosyntéze a mechanismu působení těchto látek. Znalost fyziologie jejich produkce patří mezi základní předpoklady využití autotrofních mikroorganismů v biotechnologii, farmacii i dalších oborech, a proto je zvolené téma předkládané disertační práce velmi aktuální.

Formální úroveň práce je velmi dobrá, je přehledná a v současnosti se zcela obvyklou strukturou disertačních prací sestávající z obecného úvodu, shrnutí výsledků a obecnou diskusí k přiloženým publikacím. Svým rozsahem, zpracováním a pojetím práce dle mého názoru plně splňuje všechny nároky kladené na disertační práci. Literární přehled vyčerpávajícím způsobem shrnuje danou problematiku s použitím aktuálních literárních zdrojů. Rozsah pokusných výsledků, a z toho vyplývající shrnutí, dobře vystihují cíle práce. Celkový rozsah disertace Pavla Hrouzka výrazně přesahuje úroveň obvyklou.

Při častých diskusích se studentem během jeho experimentální práce v naší laboratoři jsem měl možnost se přesvědčit, že dobře zvládl problematiku z hlediska teoretického i praktického. Mohu vyzdvihnout samostatný přístup při vlastní experimentální práci, kdy student zvládl bez nejmenších problémů všechny kultivační, laboratorní a především analytické a preparativní techniky využívané pro splnění cílů práce. Je nutno též ocenit ohromné množství času věnovaného získání potřebných dat.

Během práce na své disertaci publikoval Pavel Hrouzek s kolektivem celkem 4 články v mezinárodních impaktovaných vědeckých časopisech, z toho 1 jako hlavní autor. Student je také hlavním autorem nebo spoluautorem na 5 příspěvcích na konferencích v ČR i v zahraničí, a na některých z nich se aktivně účastnil formou přednášky (např. 16th International Symposium for Cyanophyte Research, Lucemburk 2004 nebo 17th International Symposium for Cyanophyte Research, Mérida, Mexico 2007). Přednesl také několik

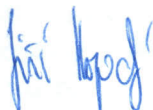
samostatných přednášek na tuzemských akcích (např. pravidelné každoroční konference doktorandů konané na ÚFB v Nových Hradech nebo prezentace na semináři katedry botaniky v Č. Budějovicích). V průběhu studia se P. Hrouzek také aktivně podílel na výuce (např. Schola Ludus a Letní akademické kurzy pořádané UFB v Nových Hradech, výuka cvičení z Fykologie, algologie na Terénní praxi nebo praktika z předmětu "Instrumentální analytika" probíhající ve spolupráci s technickou univerzitou IMC v Kremsu, Rakousko).

Závěr

Podle mého názoru splnila předložená práce beze zbytku všechny vytýčené cíle. Výsledky získané v rámci této disertační práce navíc otevřely prostor pro další výzkum, neboť vedle již známých metabolitů byly prokázány i další, dosud neidentifikované látky mající sledovanou biologickou aktivitu. Student dosáhl během svého pobytu na pracovišti Mikrobiologického ústavu v Třeboni velmi dobrých vědeckých výsledků. Pracoval spolehlivě a zodpovědně. Odvedl velký kus odborné a pedagogické práce. Jeho působení na našem pracovišti lze hodnotit velmi kladně.

Disertační práci Mgr. Pavla Hrouzka hodnotím jako více než vyhovující a doporučuji k obhajobě bez jakýchkoliv výhrad a připomínek.

V Třeboni 20. 4. 2010



Ing. Jiří Kopecký, CSc.
Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i.
Sektor autotrofních mikroorganismů
Opatovický mlýn, 37981 Třeboň

tel. 384 340465
fax 384 340415
email: kopecky@alga.cz