

Opponent's Review of Petr Tomek's Master Thesis:

Muscotoxins: novel cytotoxic undecapeptides with unique structural elements and mechanism of action, isolated from soil cyanobacterium *Nostoc muscorum*.

The goal of this thesis was to extract and purify previously unknown cytotoxic compounds from a cyanobacterium present in the soil and evaluate their possible anticancer applications.

In my opinion, this is a very well written thesis with an extensive and meaningful review on the current applications of natural compounds in cancer treatment. The procedures have a logic sequence, directed to solve the issues that were being presented as the work was being developed. Also, the broad range of techniques applied, both analytical and biological, can be very positive for the formation of the future scientist. Results and conclusions followed the same criterious logic sequence. I believe that there are many positive things in evaluating the numerous compounds produced by this incredible combinatorial machinery present in cyanobacterias. Of course, not all these compounds will be used in treatment for cancer, or even as biological probes for studying intracellular pathways, but it is important to test as many of them as possible.

Because the thesis is so well written, I feel obliged to mention some formal details dealing with the consistency of the text. There are some typographical errors that could easily be avoided using spelling and grammar tools present in any word processor (as I did to write this text). There are references not linked to the text (examples: "SLAUGHTER, M. R., BUGELSKI, P. J. & O'BRIEN, P. J. (1999)" and "SQUATRITO, R. C., CONNOR, J. P. & BULLER, R. E. (1995)"), that could also be avoided using some reference management software. Consistency is also lacking in the abbreviations (a page with a list of abbreviations before the introduction can help a lot people reading and understanding the text), in figure legends (example: "Figure 1.8" versus "Fig. 1.9"), and their reference in the text, and units and companies description.

As I have mentioned before, the procedures, results and discussion are well described in a logic sequence. I have, however, two questions:

- 1- It is mentioned in the discussion that no apoptic effect could be attributed to these compounds. Is there some experimental evidence supporting this result? I could not find it in the text.
- 2- Why "Antitumour application of this compound is not feasible"? Viability studies showed a window of concentration where only HeLa cells had their viability strongly reduced, while other cells remained unaffected. All further experiments were performed exclusively with HeLa cells. Also, suboptimal doses of synergistic compounds can be used in combination therapy avoiding individual cytotoxicity.

In summary, Petr Tomek demonstrated excellent biochemistry skills and the ability to present them in the written form, accompanied by an excellent state of the art review. Also, the ability to use a large number of different techniques with the objective of pursuing an objective is admirable.

Taken together, I suggest the grade Excellent.

António Pombinho, MSC.

Prague, 24th May, 2010

António Pombinho

Oponentský posudek na práci Petra Tomka „Muscotoxins: novel cytotoxic udecapeptides with unique structural elements and mechanism of action, isolated from soil cyanobacterium *Nostoc muscorum*.“

Práce Petra Tomka se zabývá velmi náročným tématem, jímž je hledání nových biologicky aktivních molekul v netradičních přírodních zdrojích. Již samo zvládnutí jejich izolace, analýzy a identifikace vyžaduje poctivý kus práce.

Předkládaná práce má celkem 93 stran. Úvod práce tvoří ambiciózní přehled látek potenciálně využitelných k léčbě rakoviny, následovaný přehledem metabolitů sinic. Na straně 36 jsou formulovány cíle práce jimiž jsou izolace, identifikace a určení biologické aktivity nového metabolitu, jehož výběr se řídil jednak biologickou aktivitou, jednak vyplynul z porovnání molekulové hmotnosti s knihovnou dosud popsaných látek.

Těžiště práce autora spočívá zejména v detailním prozkoumání podmínek izolace nového metabolitu a velice detailního propracování analytických a preparativních metod. Popis práce i detailní diskuse výsledků nenechává pochyb o množství práce odpracované rukama. Správně zvolená strategie postupu pak vedla k nalezení opravdu unikátního metabolitu nazvaného muscotoxin. Velmi cenným přínosem práce je multidisciplinární překlenutí počínaje biotechnologií, extrakcí, izolací, charakterizací až po velmi dobře komentovaný biologický účinek. Velká erudice autora je rovněž patrná na rozsáhlém přehledu literatury, který není pouze přehledem, ale jednotlivé odkazy jsou velmi dobře zpracovány a komentovány v textu.

Po formální stránce je práce psána přehledně, poměrně vzletným stylem odrážejícím nadšení autora a je dobře přístupná čtenáři.

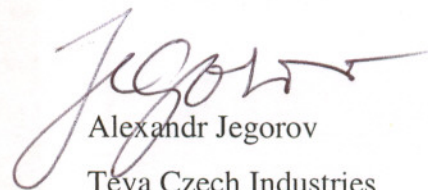
K práci mám několik připomínek, které ale v zásadě nesnižují výbornou kvalitu předloženého díla:

1. Experimentální práce velmi detailně popisuje všemožné podmínky a experimentální parametry, nicméně dosti citelně postrádá navážky a zcela pak výtěžky jednotlivých kroků. Byl-li toxin izolován, šlo dozajista zpětně použít jeho odezvový faktor ke kalibraci metod. Možná jsem něco přehlédl, ale i přes vyvinuté úsilí jsem nezjistil, jaká byla produkce metabolitu na hmotu biomasy nebo objem fermentoru.
2. Popis Y osy grafu Fig. 3.2. na straně 48 je poněkud zběsilý, dozajista nebyly extrahovány ionty, není zcela zřejmé jaká hodnota byla odečtena a zda MS detektor není při koncentraci 10^{10} přesycen. Drobné nepřesnosti v popisu MS dat jsou např. i na předchozí stránce (885 a 1111 nejsou m/z).

3. Práce je multidisciplinární, což je samozřejmě velmi dobře, ale v rámci disertační práce by bylo vhodnější více vymezit práci autora a data poskytnuta ostatními členy týmu, práci by to rozhodně nesnížilo.
4. Pojmenování nové látky je výhradně pravomocí autora. Tudíž jen malino a z povzdálí si dovoluji komentovat, že jsem samozřejmě nepřehlédl jméno sinice, ale daleko více se běžnému čtenáři vybaví čeleď *Muscoidea* a jeho nejběžnější zástupce *Musca domestica*, což může vést trochu ke zmatení, co má ta látka společného s mouchama.

Přes drobné výhrady, považuji celkově práci Petra Tomka za velmi dobrou a doporučuji ji k obhajobě.

V Českých Budějovicích 16.5. 2010



Alexandr Jegorov

Teva Czech Industries

Branišovská 31

České Budějovice