

Školitelský posudek Bakalářské práce "Porovnání účinků tolytoxinu a jeho strukturní varianty (7-O-methylscytophycin B) na rakovinných a primárních buněčných liniích".

Bakalářská práce Veroniky Brožové se zabývá porovnáním účinků dvou látek ze skupiny scytophycinů: tolytoxinu a jeho strukturní varianty 7-O-methylscytophycinu B na rakovinných a primárních buněčných liniích. Druhá část práce se soustředí na stanovení typu buněčné smrti způsobené danými látkami. Oba tyto cíle byly v bakalářské práci splněny.

Práce o rozsahu 48 stran má klasické a logické uspořádání. Je tvořena úvodem, stanovením cílů, metodikou, diskuzí a závěrem.

V úvodu je stručně provedená rešerše týkající se současných poznatků o látkách ze skupiny scytophycinů s podrobnějším popisem znalostí o tolytoxinu a krátkým úvodem do problematiky buněčné smrti. Musím podotknout, že v kapitole o buněčné smrti se vyskytuje faktická chyba. Autorka zde popisuje, že na kaspázách závislá vnitřní apoptotická dráha je spouštěna stimuly pocházejícími výlučně z vnitřního prostředí buňky. Vnitřní apoptotická dráha však může být spuštěna různými chemoterapeutickými látkami (nebo např. zkoumaným tolytoxinem a 7-O-methylscytophycinem B) či dalšími stimuly z vnějšího prostředí (nedostatkem růstového faktoru, hypoxií, UV zářením).

Co se jeví jako trochu nelogické je číslování kapitol v úvodu. Kapitoly scytophyciny (2) a buněčná smrt (3) jsou na stejné úrovni jako úvod (1), ačkoliv je jasné, že se jedná o podkapitoly.

Cíle práce jsou jasně stanovené a Veronika uvádí, jakými experimentálními postupy bude těchto cílů dosaženo.

Metodologická část je hezky zpracovaná a odráží množství práce, které bylo studentskou vykonáno. Veronika si osvojila metody práce s buněčnými kulturami, provádění buněčných viabilitních a kaspázových esejí stejně jako přípravu trvalých preparátů pro konfokální mikroskopii a přípravu vzorků pro průtokovou cytometrii. Práci odváděla pečlivě a samostatně.

Výsledky jasně ukazují rozdílné působení tolytoxinu a jeho strukturní varianty. Schopnost tolytoxinu účinněji vyvolat buněčnou smrt v porovnání s jeho strukturní variantou je ukázána na výsledcích viabilitních esejí na HeLa rakovinných buňkách jako je MTT a ATP esej. Rozdílnost působení je patrná i z výsledků velkokapacitního screeningu, kde byla ATP esej provedena na 21 liniích. Nárůst kaspáz 3/7 u HeLa buněk a snížená hladina kaspáz u HeLa Bax/Bak DKO po ošetření oběma látkami ukazují, že obě látky indukují apoptózu pravděpodobně přes vnitřní apoptotickou dráhu. Z výsledků hemolytického testu i z velkokapacitního screeningu je zřejmý výraznější účinek obou látek na některé rakovinné linie v porovnání s primárními liniemi. Všechna naměřená data naznačují, že by látky mohly být potenciálně zajímavé pro další farmakologický výzkum v oblasti protirakovinných látek. Zhoršená kvalita obrazové přílohy bohužel snižuje hodnotu celé kapitoly.

V diskuzi se studentka zabývá možnou příčinou rozdílného působení obou látek založeného na přítomnosti hydroxylové skupiny na šestém uhlíku v makrolidovém kruhu molekuly. Tento výsledek je velice zajímavý, jelikož doposud nebyl brán makrolidový kruh u scytophycinů jako část molekuly přímo rozrušující aktin, ale sloužící pouze k ukotvení k aktinu. Dále je diskutován potenciál látek pro další výzkum.

Co se týče spolupráce s Veronikou, bohužel nejde nezmínit, že byla poměrně obtížná. Ačkoliv svojí práci v laboratoři splnila, často jsem pocítovala nezáměr o pochopení dané problematiky. Komunikační výpadky na několik měsíců se staly běžnou záležitostí a neplnění termínů a jakýchkoliv jiných domluv taktéž. I přesto je finální podoba bakalářská práce na dobré úrovni a

splňuje podle mého názoru vše, co by práce měla obsahovat. Navíc, Veronikou nasbíraná data přispěla k vytvoření článku, který je nyní připravený k poslání do časopisu s impaktem.

V Třeboni, 21.5.2021


Mgr. Kateřina Delawská, DiS.