

Oponentský posudek na disertační práci

Autorka: **Mgr. Andrea Kuthanová**

Katedra fyziologie rostlin

Přírodovědecká fakulta

Univerzita Karlova v Praze

Název práce: **Indukce a detekce programované buněčné smrti (PCD) v buněčných liniích tabáku**

Oponent: **Prof. RNDr. Ladislav Havel, CSc.**

Ústav biologie rostlin

Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně

Předložená dizertační práce se zabývá aktuálním tématem – programovanou buněčnou smrtí u rostlinných buněk. Jako modelový objekt autorka vybrala známou buněčnou suspenzi BY-2 a její transformované varianty. Práce je členěna klasickým způsobem na příslušné kapitoly. Ty pak zahrnují řady podkapitol, které zvyšují celkovou přehlednost práce. Spis ukazuje, že Mgr. Kuthanová reagovala na otázky, které se během experimentální práce nově objevovala, a pokoušela se o jejich řešení.

Literární úvod práce ukazuje, že autorka nabyla obrovské množství znalostí týkající se problematiky programované buněčné smrti u rostlin i u živočichů. Text je pak shrnutím těchto znalostí od úrovně molekulární, přes signální dráhy, přes úroveň buněčných organel, přes pletiva a orgány až po celistvý organismus. Pozornost byla věnována i vztahu programované buněčné smrti u rostlin a abiotickému i biotickému stresu. Text je logicky řazen a je psán srozumitelně a poměrně kriticky. Je čtivý. Autorka projevila velkou snahu skloubit všechny nebo skoro všechny dosavadní pohledy na celou problematiku z hlediska jak živočišných tak rostlinných modelů. Jako oponent mám k textu literárního přehledu několik připomínek:

Text trpí více než nepovšimnutelným množstvím anglikanismů.

Obsah a další místa - Golghiho komplex na místo Golgiho komplex (srov. originální výslovnost obou tvarů)

Str. 15 - Nelze zcela souhlasit s tím, že buněčné kultury jsou skupinou nediferencovaných buněk.

Str. 24, 33, 35 pH je číselná hodnota. Ta sama o sobě nemůže být kyselá ani neutrální ani zásaditá.

Str. 35 nedoporučuji používat formulaci „zabíjení buněk“ (nabízí se asociace se zabijačkou)

Str. 42, 91 – nesprávná zkratka pro Golgiho komplex (GA místo GK)

Str. 45 plazmatickou membránu nelze považovat za buněčnou organelu a tedy její změny řadit do podkapitoly 3.4. která se jich týká.

Str. 50 autolýza floemových buněk - fatálně chybný odstavec po všech stránkách – požaduji vysvětlení.

Str. 50 není bráno v úvahu, že počátek procesu embryogeneze je u jehličnanů zcela odlišný od rostlin krytosemenných (začátek textu charakterizuje krytosemenné, pokračuje se jehličnany)

Str. 50 špatná definice kořenové čepičky,

Str. 50, 59, 60, 61, 65, 130 pojem „semenáček“ je pojem technologický nikoli botanický

Str. 51 nesprávné epiteton druhové – správně kalatka madagaskarská (*Aponogeton madagascariensis*)

Str. 62 kyselina citrátová místo citronová

Žádám o vysvětlení:

Str. 53 (dole) Mitochondriální DNA rostlin kukuřice „T cytoplasm“ (...) snižuje obsah genu *Turf-13*...

Str. 60 Čím je kadmium užitečné nebo nutné pro růst rostlin?

Kapitola „Materiál a metody“ materiál a metody je napsána odpovídajícím způsobem. Všechny popsané metody jsou adekvátní řešení příslušné otázky a jsou podle textu reprodukovatelné. Této kapitole nelze nic vytknout. Jen snad jeden dotaz: Jak vznikl výraz třídní buňka a pětidenní atd. (podle vzoru zimnice)? Domnívám se, že vím, co znamená, ale přece jenom by autorka mohla při obhajobě podat vysvětlení.

Kapitola „Výsledky“ je skutečnou ozdobou celé disertační práce. Ukazuje, kolik musela Mgr. Kuthanová zvládnout sama metodických přístupů nebo kolik výsledků získaných ve spolupráci musela interpretovat. Kapitola je doplněna řadou excelentních obrázků. Řada zjištění je zcela originální. K této kapitole mám jen několik zanedbatelných poznámek:

K hodnocení výsledků získaných u buněk při kultivaci delší jak sedm dnů je třeba přistupovat obezřetně, protože i v kontrole dochází po této době ke změnám, což autorka ostatně sama konstatuje (str. 79).

Šlo by přece jen odlišit při hodnocení morfologie jader (5.1.1.3.2.) změny předcházející odumření buněk od těch, které po něm následují? Žádám autorku, aby vyslovila svůj názor.

S grafů na obr. 5.5. lze odvodit, že odumírání buněk nacházejících se ve stacionární fázi růstu bylo výrazně pomalejší než u buněk ve fázi exponenciální, a to jen u nižších použitých koncentrací iontů kadmia při hodnocení po 1. dnu kultivace, pak docházelo k postupnému vyrovnávání (s výjimkou nejnižší koncentrace iontů Cd). S autorkou však plně souhlasím, že exponenciální fáze růstu je pro studium celé problematiky vhodnější než fáze stacionární.

U grafu na obr. 5.7. není uvedeno, co který sloupec představuje.

Žádám autorku, aby vysvětlila souvislost textu na str. 110 a grafu 5.28. E (podle grafu došlo k poklesu mitotické aktivity téměř až na nulu nikoli ihned, ale až za 2 hodiny po přidání iontů kadmia).

Zjištěné výsledky mimo jiné naznačují výskyt tzv. mitotické smrti (str. 111, obr. 5.29.). Ta pak mohla ovlivnit následující pozorování. Vysoce originální je pozorování jader za přítomnosti inhibitoru živočišných intermediálních filament – akrylamidu.

Za poněkud kuriózní považuji zjištění, že všechny buňky, i ty s protáhlými jádry, se musely během mitózy rozdělit (str. 115). To snad ani jinak při mitóze nemůže být! Hned po té však následuje pěkné popsání průběhu mitózy u takovýchto buněk získané pomocí časosběrné mikroskopie.

Žádám o vysvětlení opodstatněnosti výrazu „neprotoplastová buňka“ v daném kontextu (str. 116),

Žádám o vysvětlení a po té doplnění obrázku 36 (šipku jsem nenašel), obrázku 5.39 – kde je D?

Nelze všeobecně tvrdit, že prodlužování buněk souvisí s prodlužováním jader (str. 128). V přirozených systémech diferencujících se buněk jejich prodlužování ne vždy vede k prodlužování jader. V systému buněčné kultury za přítomnosti iontů Cd bude zřejmě hrát v obou případech primární roli tento stresový faktor, což ostatně naznačují i autorčiny výsledky získané pomocí inhibitoru živočišných intermediálních filament – akrylamidu.

Po formální stránce je práce napsaná pečlivě. Velmi oceňuji, že autorka uvádí jak vznikly veškeré zkratky genů i proteinu. Pro většinu čtenářů disertačního spisu, kteří přímou s danou problematikou nepracují, je to velká pomoc.

Poněkud neobvyklé pro tento typ práce je oboustranné psaní textu. Nedostatkem, který se bohužel objevuje ve většině dnešních prací, je nerespektování pravidla o psaní jednopísmenových předložek a čísel patřících ke slovnímu výrazu. Nesmí být na konci řádků! Na několika místech chybí větný přísudek, jinde je zaměněno „i“ a „y“, někde chybí interpunkce. O četných anglikanismech už byla zmínka.

Ještě nikdy jsem nevěnoval ve svém posudku pozornost „Poděkování“. Tato část do disertační práce nesporně patří a poděkovat je třeba všem, kteří významným způsobem napomohli vzniku předložené práce. O významnosti rozhoduje samozřejmě autor sám či autorka sama. Jsem toho názoru, že sem však rozhodně nepatří jen samotná křestní jména, že sem už vůbec nepatří jejich domácí formy. Buďme k sobě milí, oceňujte co ocenitelného jest. Zároveň udržujme jistou úroveň, jisté tradice, které v této zemi, v této části Evropy, byly a dosud snad jsou zachovávány. (Pozn.: Přivlastňuje-li se podmětu, používá se v českém jazyce přivlastňovací zájmeno „svůj“).

Celkové hodnocení:

Předloženou disertační práci považuji za více než velmi zdařilou. Uvedené připomínky jsou v celkovém kontextu nepatrné. Předložená dizertační práce zcela odpovídá požadavkům kladeným § 47 zák. 111/1998 Sb. Mgr. Andrea Kuthanová na vynikající úrovni prokázala připravenost k samostatné činnosti v oblasti vědy a výzkumu, a proto práci

navrhuji práci k obhájení.

V Brně dne 18. května 2008