

Studium metabolismu polyaminů v buněčném dělení a jejich úloha ve fyziologických pochodech rostlin

K posouzení jsem disertační práci obdržel jako vázaný tisk. Je předložena v kombinované formě shrnujícího kompaktního textu v rozsahu 43 stran, který je doplněn přílohami - kopiemi publikovaných prací. Pokud jde o formální organizaci práce, v souladu s běžnou zvyklostí sestává z částí jako je obsah, úvod, cíle práce, použité metody, souhrn výsledků a závěry. Připojeny jsou seznamy citované literatury a použitých zkratk. Chybí pouze celková stručná diskuse. Cíle práce byly splněny, jak je možné posoudit z článků publikovaných v kvalitních oborových recenzovaných časopisech *Plant Physiology and Biochemistry*, *Journal of Experimental Botany* a *Plant Cell Report*, kde samozřejmě výsledky diskutovány jsou. Jedna z příloh je ve formě hotového rukopisu. Uchazečka je u tří publikovaných článků uvedena na prvním místě v seznamu autorů, u dvou z těchto vědeckých prací pak autorem v pořadí druhým.

Teoretická část je literárním přehledem o polyaminech vyskytujících se v přírodě. Zmiňuje biosyntézu těchto látek s úlohou charakteristických enzymů, oxidační katabolismus, kde působí diaminoxidasy a polyaminoxidasy. Nechybí kapitoly o tvorbě konjugátů polyaminů s organickými kyselinami či transportu polyaminů. Důraz je kladen na známé fyziologické účinky polyaminů, tedy účast v procesu buněčného dělení, embryogenezi, apoptóze či stresové odpovědi. V teoretické části, která je napsána velmi čtivě a s logickou posloupností, mohu vytknout pouze drobné nedostatky v biochemickém a chemickém názvosloví např. používání koncovky -áza namísto správného českého -asa ve jménech enzymů nebo pojmu kyselina perchlorová oproti správnému kyselina chloristá (k enzymům viz http://orion.chemi.muni.cz/doporuceni_nazvoslovne_komise.htm). K tématu katabolické regulace hladiny polyaminů v živých organismech včetně rostlin mohla být připojena i transaminační dráha, která byla popsána zvláště u mikroorganismů, s tím, že její existence je dokumentována i u rostlin (*Lupinus polyphyllus*, Wink, M., a Hartmann, T. 1979, *FEBS Lett.*, 101, 343). Jde však o záležitost, která je obecně málo známá a recentní literatura se jí nevěnuje. Pokud jde o část metodickou, mohu jen konstatovat, že bylo využito standardních experimentálních přístupů. Dotázal bych se pouze na volbu pufru použitého při stanovení aktivity diaminoxidasy (pH 8,5), neboť je známo, že tyto enzymy u rostlin obvykle vykazují pH optimum v rozmezí pH 7,0-7,5. Předpokládám však, že případný rozdíl nebude nijak dramatický. Mám pak ještě upozornění ke klasifikaci diaminoxidasy, které se nedávno změnilo a EC kód 1.4.3.6 tak již není platný.

Výsledková část představuje shrnutí k jednotlivým přílohám s odpovídajícími závěry. S výjimkou jedné z pasáží, která komentuje výsledky zpracované dosud ve formě rukopisu, prošly prezentované výsledky běžným recenzním v řízením v odborných časopisech. Biologickým materiálem pro výzkum byly zejména buněčné suspenzní kultury tabáku a vojtěšky, ale i rostliny pěstované ve fotoperiodě nebo embryonální kultura. Sledovanými vlastnostmi v závislosti na fyziologických podmínkách (buněčný cyklus, diurnální cyklus, stres aj.) byly hladiny aktivit biosyntetických a biodegradačních enzymů (příp. na úrovni mRNA), hladiny volných nebo konjugovaných polyaminů a další parametry. Získané informace prokazují účast polyaminů v důležitých fyziologických procesech a demonstrují regulaci jejich biosyntézy a degradace. Jsou však polyaminy samy o sobě buněčnými regulátory? Tato skutečnost mohla být v souvislostech s naměřenými daty jako závěrečná část kapitoly diskutována. Škoda nevyužitého prostoru.

Mám ještě jeden dotaz k této části: v tabáku jsou typickými enzymy metabolismu polyaminů putrescin-N-methyltransferasa a N-methylputrescinoxidasa, které mají důležitou roli v biosyntéze alkaloidů. Bylo by jistě zajímavé sledovat jejich aktivitu a hladinu N-methylputrescinu či N-methylpyrrolinu v kulturách BY-2. Může autorka tuto záležitost komentovat?

Závěrem mohu konstatovat, že disertace přináší kvalitní a originální výsledky, které byly publikovány v impaktovaných časopisech. Výstupy svědčí o zvládnutí požadavků na zpracování informací, plánování experimentů, samostatnou a reprodukovatelnou vědeckou práci v laboratoři, správné vyhodnocování výsledků a formulaci závěrů. Jednoznačně doporučuji její přijetí k obhajobě a po úspěšném obhájení souhlasím s udělením titulu Ph.D. v souladu s příslušným zákonem o vysokých školách.

V Olomouci dne 21. 5. 2009

Prof. Mgr. Marek Šebela, Dr.