

Posudek oponenta na doktorskou disertační práci Mgr. Tomáše  
Hendrycha: „Ovlivnění činnosti membránových transportních systémů  
kvasinek stresovými faktory.“

Předložená disertační práce je věnována chemicky navozenému stresu a molekulárním obranným mechanismům jednobuněčných organismů. Buněčný stres a mechanismy obrany jsou mimořádně důležité obecně nejen pro mikroorganismy, ale souvisí i s klinickými lékařskými aplikacemi v humánní medicíně při léčení řady chorob. Z těchto důvodů je výběr tématu dle mého soudu velmi aktuální.

Celá tato práce vyniká mimořádně jasným a názorným zpracováním. V teoretickém úvodu je nejprve pojednáván buněčný stres a mechanismy obrany a to z obecného biologického hlediska. Následuje výklad této složité problematiky zaměřený speciálně na kvasinky, jako modelový organismus eukaryontní buňky. Výborně je zde pojednán aktivní transport toxických látek a mnohočetná léková rezistence, jež vzniká v důsledku činnosti transportních molekulárních pump. Molekulární struktura transportérů jakož i podstata jejich mechanismu je zde podrobně diskutována. Na tomto místě bych chtěl zvláště ocenit uvedení obrázku 1.2 na str. 11, který názorně a přitom úsporným způsobem shrnuje hlavní aspekty této složité problematiky.

Střední rozsáhlá část této práce je věnována studiu transportérů mnohočetné lékové rezistence. Autor se soustředil na použití redistribuční potenciometrické fluorescenční sondy karbocyaninového barviva diS-C<sub>3</sub>(3). Navázal tím na předešlé úspěšné aplikace této redistribuční sondy v oddělení biofyziky Fyzikálního ústavu UK. Popsal fluorescenční test pro stanovení účinnosti chemického stresu jakož i batochromní spektrální posuvy související s permeabilizací buněčné membrány. Velmi oceňuji tu skutečnost, že pro interpretaci pokusů na přírodním materiálu byly předtím provedeny t.zv. modelové experimenty s cílem rozlišit intaktní, depolarizované a permeabilizované buňky v suspensi. Hlavní fluorescenční metodou používanou v této práci bylo měření barvení buněk – metoda barvicích křivek. Kromě toho byl prováděn i výsevový a zónový test.

K hlavním výsledkům patří stanovení míry poškození plasmatické membrány buněk účinkem chemického stresu. Na základě údajů z modelových experimentů v kombinaci s výsledky výsevových testů bylo možno analyzovat mechanismy účinku vybraných stresorů (biocidů).

Druhá rozsáhlá část práce je věnována sledování vlivu stresorů na membránový potenciál buněk a na aktivitu dvou hlavních MDR pump kvasinek.

Ve dvou samostatných přílohách jsou uvedeny in extenso autorovy publikace z dané problematiky, které byly zveřejněny ve Folia Microbiologica a Biochimica et Biophysica Acta a deset dalších příspěvků na konferencích.

K práci nemám žádné kritické připomínky. Oceňuji zejména tu skutečnost, že jak teoretický úvod, tak i vlastní měření a výsledky jsou výborně a pečlivě zpracovány. Grafická úprava celé práce je vzorná. Hlavní výsledky této práce byly publikovány v mezinárodních časopisech a prošly tak oponentním řízením.

Z uvedených důvodů co nejvřeleji doporučuji tuto disertaci přijmout jako  
podklad pro udělení titulu PhD.

V Praze dne 1. února 2010



Doc. RNDr. Otakar Jelinek, CSc.