

Posudek disertační práce

## VÝVOJ SPEKTROFLUORIMETRICKÉ METODY PRO DETEKCI NUKLEÁRNÍ KONDENZACE A FRAGMENTACE V BUŇKÁCH

Autorka práce: Mgr. Pavlína Majtnerová

Autor posudku: doc. Mgr. Petr Táborský, Ph.D.

Disertační práce Mgr. Pavlína Majtnerové se primárně zabývá detekcí apoptózy pomocí fluorescenční sondy Hoechst 33258. Po úvodu práce pokračuje teoretickou částí, která stručně vysvětluje apoptické děje a možnosti jejich detekce různými metodami. Přestože jsou tyto kapitoly popsány čtivě a na vysoké vědecké úrovni, lze vytknout pár detailů. Například texty v obrázcích přecházejí z češtiny do angličtiny (obr. 5 a 9.), u převzatých obrázků (byť z vlastní publikace) chybí reference na zdroj, atd. Kapitola 2.2.1.3 (Fluorescenční mikroskopie) je na můj vkus příliš stručná, resp. by si disertační práce zasloužila samostatnou kapitolu „fluorescenční DNA sondy“, kde by byly sondy lépe představeny a detailněji popsány. Mohla zde být zmíněna i sonda Alexa Fluor 488, která byla použita v TUNELu. Dále by mohly být lépe popsány interakční módy DNA, apod.

Po kapitolce „Cíle práce“ následuje „Experimentální část“, která zejména popisuje provedení a přípravu experimentů. Popis je velmi podrobný a na vysoké úrovni. Z této části je také patrné, jak velké množství experimentů bylo v rámci disertační práce provedeno. Jediné co lze vytknout je, že u použitých chemikálií není uváděna čistota, což bývá obvykle zvykem a že někdy autorka zbytečně moc používá „anglikanismy“ (např. „komparovat metodu“).

Výsledková část potom popisuje zejména vývoj spektrofluorimetrické metody pro rychlou detekci nukleární kondenzace a fragmentace pomocí H33258. K vyvolání apoptózy jsou pak využívány známa činidla. Výsledky ukázaly, že popsaná metoda je schopna detegovat nukleární změny u dvou vybraných buněčných linií po působení tří spouštěčů apoptózy (cisplatina, staurosporin a kamptotecin). Výsledky jsou pak srovnány s běžně metodami běžně používanými pro detekci apoptózy. Výsledky uvedené v disertační práci ukazují, že nově vytvořená metoda je v mnoha směrech minimálně srovnatelná s hojně využívanou metodou TUNEL (a dalšími), přičemž ale poskytuje další významné výhody. Naprosto s autorkou souhlasím, že navržená metoda je výrazně rychlejší a zejména

Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta

levnější, než ostatní relevantní metody detekce apoptózy. Věřím, že se díky své jednoduchosti brzy stane hlavní metodou detekce apoptózy.

Práce je doplněna autorčinými publikacemi, které jsou celkem dvě, ale autorka disertace je zároveň spoluautorkou i dalších tří publikací. Nejvíce hodnotím publikaci ve velice prestižním časopise Scientific Reports s IF = 3.99, kde je Mgr. Majtnerová uvedena jako první autor. Někdy bývá u vložených publikací zvykem uvádět podíl autora, ale z předchozího textu disertace je jasné, že podíl autorky na této publikaci byl dominantní.

Na závěr zbývá konstatovat, že disertační práce Mgr. P. Majtnerové má vysokou vědeckou úroveň. Lze také říci, že splnila cíle vytýčené v úvodu disertační práce. Proto tuto práci doporučuji k obhajobě.

V Brně 20.8. 2021

.....

Doc. Mgr. Petr Tábořský, Ph.D.

#### Doplňující otázky

1. V disertační práci postrádám nějaký „návrh“ proč vlastně u H33258 dochází ke zvýšení intenzity fluorescence v přítomnosti kondenzujícího buněčného jádra? Může to souviset s tím, že H33258 se přednostně váže na místa bohatá na adenin a thymin?
2. Můžete uvést další ukázky DNA sond a popsat jejich výhody a nevýhody? (permeabilita, vazebná specifita, spektrální vlastnosti, atd.).
3. Můžete uvést nějakou jinou nízkomolekulární DNA sondu, která by byla vhodným kandidátem pro detekci nukleární kondenzace a fragmentace?