



## Oponentský posudek disertační práce

Autor práce: **Mgr. Jan Čapek**

Název: **Fluorescenční metody pro detekci buněčného poškození**

Posuzovaná doktorská dizertační práce má celkem 110 stran vč. příloh a seznam literatury obsahuje 267 správně citovaných referencí. Součástí práce jsou také 3 publikace v impaktovaných časopisech, na jedné z nich je Mgr. Čapek prvním autorem. Práce má klasické členění, kde úvod na 45 stranách přehledně a zevrubně seznamuje s řešenou problematikou, zejména s aspekty fluorescence a mitochondrií. Vlastní výsledková část má 15 stran a je v příloze doplněna o originální data. Dosažené výsledky jsou v závěru diskutovány (9 stran). Veškeré části jsou napsány srozumitelnou formou bez závažnějších chyb.

Celkem 3 cíle práce jsou jasně formulovány a týkají se převážně optimalizací spektrofluorimetrických detekčních metod, které se následně použijí ke studiu toxického působení chloridu kadmnatého. Práce tak rozvíjí problematiku studovanou v laboratoři školitele. Autor na několika buněčných liniích optimalizoval detekci a kvantifikaci glutathionu a fragmentaci DNA. Spolu s detekcí mitochondriálního transmembránového potenciálu a reaktivních forem kyslíku těmito metodami sledoval toxicitu kadmia na renálních buňkách linie HK-2.

K práci mám jen několik drobných **připomínek**:

V reakci katalyzované SOD (reakce 9, str. 37) dismutují dvě molekuly superoxid anion radikálu.

V experimentální části nesrovnalosti v přípravě roztoku *o*-ftalaldehydu (str. 62), vzorci ethanolu (str. 60), atd. Kultivace buněk nepochybně neprobíhala v hyperoxii 95% O<sub>2</sub>.

U unikátních reagensů a zejména u buněk doporučuji udávat i katalogové číslo (např. ATCC CRL-2190).

Jedná se primárně o „fluorescenční práci“ a tak by se při popisu metod měly uvádět i šířky Ex/Em štěrbin a v příloze event. ukázat i kontrolní naměřená spektra příslušných fluoroforů.

Autora bych se rád zeptal na tyto **otázky**:

- 1) Jak vidíte možnost alternativní analýzy pomocí průtokové cytometrie („FACS“), případně spektrofluorimetricky v roztoku na buněčných lyzátech?
- 2) Jaký je toxický mechanismus kadmia ve srovnání s toxicitou jiných těžkých kovů (např. Hg, Pb)?



3) Jaký vidíte potenciál Vámi optimalizované metody stanovení glutathionu pomocí bimanů v běžné laboratorní a případně klinické praxi?

Závěrem lze konstatovat, že Mgr. Jan Čapek přispěl k optimalizaci rutinního stanovení glutathionu a k tématu mechanismu toxicity kadmia a o problematice úspěšně referoval. Předkládanou práci **doporučuji** postoupit k obhajobě za účelem udělení titulu Ph.D. za jménem.

V Praze 4. 6. 2020