

Evaluation of the PhD thesis of Anna Skallova:

- 1) **Have you found an original and creative intellectual input of the student?** Yes. As first author, Anna has written a very creative manuscript detailing the effect of *I. ricinus* saliva on splenic and lymph node-derived dendritic cells (DCs). This manuscript has been published by the distinguished refereed journal, *Journal of Immunology*. Presently, little work has been done to evaluate the effect of vector saliva (specifically tick saliva) on the function of these cells, which are the bridge between innate and adaptive immunity in the mammalian host. These seminal studies lay the groundwork to deciphering specific molecules secreted in tick saliva that may be delaying maturation of DCs and what specific molecules may be inhibiting TNF- $\alpha$  and IL-12 release, which can lead to novel vaccine targets to prevent multiple pathogens transmitted simultaneously by ticks.
- 2) **Has the student been autonomous in performing the experiments as well as interpreting and presenting them?** It is difficult for me to answer this question having not been in the Czech Republic while these studies were conducted.
- 3) **Are the results of the project original, and what is their main outcome?** Part of this question has already been written in the answer to question #1. I would say that these studies are unique in that the effects of *I. ricinus* saliva were examined both *in vitro* and *in vivo*, making these studies a very valuable contribution to the scientific literature. The majority of work until now has been to examine the effect of vector saliva on effector cells within *in vitro* culture systems. As noted earlier, these studies lay the ground work for examining the effects of specific molecules in tick saliva and their effects on DCs *in vivo*. Likewise, studying the interaction(s) of TBEV and DCs has offered multiple new insights into the immunopathogenesis of this important disease. I would definitely have liked to see some of these studies done with tick-transmitted virus infection and the effects on Langerhans cells of the skin, but in total these are important precursor studies that will lead to further advances in this field. This "real world" approach (*in vivo* evaluation of DCs) will definitely foster ideas for new vaccine and therapeutic approaches toward tick-borne diseases, encompassing both bacterial and viral etiologies.
- 4) **Would this thesis be adequate for a PhD degree in your home institution/country?** No.
- 5) **How would you evaluate the work of this student considering other PhD candidates you have known:** Among the best 10%.
- 6) State clearly whether or not it meets criteria for a PhD degree. As I understand it, this certainly meets the criteria for granting the PhD degree in the Czech Republic.

Anna Skallová  
3/25/09

**Oponentský posudek na disertační práci mgr. Anny Skallové s názvem Interactions among *Ixodes ricinus* tick saliva, murine dendritic cells and the tick-borne encephalitis virus**

Disertační práce mgr. Anny Skallové se zabývá velmi aktuálním tématem, a to vztahem imunitního systému makroorganismu, vektoru a virového mikroorganismu na příkladu viru klíšťové encefalidity, klíštěte a hostitelského organismu (myši).

Práce je po formální stránce velmi dobře vypracována. Je sice útlá, ale zcela postačujícím způsobem uvádí čtenáře na 13 stranách do řešené problematiky, po níž následují stručné a jasné cíle práce. Stěžejní část disertace tvoří 3 vlastní publikace otištěné v časopisech s vysokým IF. Závěrem autorka diskutuje dosažené výsledky a shrnuje problematiku. Součástí disertace je přehled použité literatury a publikací autorky. Práce je psaná velmi pěknou angličtinou.

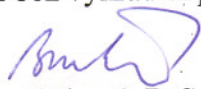
Autorka splnila cíle, které v práci formulovala, použila adekvátní moderní metodologii a výsledky kriticky zhodnotila v diskusi ke každému publikovanému článku i vcelku na závěr práce. Práce přinesla nové poznatky v oblasti ovlivnění ústředních buněk imunitní reakce, dendritických buněk, mikroprostředím klíštěčích slin, což následně ovlivňuje rozvoj imunitní reakce proti viru přenášeného právě přísátím klíštěte. Imunomodulační – zejména inhibiční – efekt slin klíštěte s přímým ovlivněním DC je zřejmě hlavní patogenetický mechanismus infekciozity viru klíšťové encefalidity. Důležité je také zjištění plynoucí z experimentální práce na imunodeficitních experimentálních zvířatech, že za hlavní mechanismus tkáňového poškození u infekce je zodpovědný samotný „imunokompetentní“ imunitní systém hostitele, zejména cytotoxické T lymfocyty.

Autorka prokázala, že ovládá vědecké metody, má dobré teoretické znalosti i dovednosti v oblasti moderních laboratorních metod. Dokáže kriticky zhodnotit dosažené výsledky a korelovat je s úrovní poznání v řešené oblasti.

Vzhledem k tomu, že podkladem pro disertační práci jsou články, které prošly oponentským řízením a jsou publikovány v kvalitních vědeckých časopisech, nemám k práci zásadnější připomínky. Dovolím si položit pouze několik otázek:

1. Zda jsou v klíštěčích slinách definované jiné látky než zmiňovaný prostaglandin E a Salp 15, které by byly zodpovědné za imunomodulační efekt této tekutiny.
2. Jakou roli hrají interindividuální rozdíly ve vnímavosti k infekci dané genetickou výbavou jedince? Projevila se variabilita ve výsledcích i mezi jedinci ze stejného kmene experimentálních zvířat? Lze očekávat stejné ovlivnění i v případě lidských DC?

Předložená doktorská disertační práce splňuje podmínky příslušných zákonných ustanovení, a proto ji bez výhrad doporučuji k obhajobě.

  
prof. MUDr. Jiřina Bartůňková, DrSc.  
Ústav imunologie UK 2. LF a FN Motol  
V Úvalu 84  
150 06 Praha 5

V Praze dne 26.2.2009



# INSTITUTE OF MICROBIOLOGY

Academy of Sciences of the Czech Republic, v. v. i.

Director

## Referee's comments to PhD. thesis of RNDr. Anna Skallová "Interactions among *Ixodes ricinus* tick saliva, murine dendritic cells and the tick-borne encephalitis virus"

Submitted PhD. thesis of Anna Skallová, a PhD. student of the Faculty of Science in České Budějovice, was elaborated in the Institute of Parasitology of the Biology Centre of the Academy of Sciences under the supervision of Doc. RNDr. Jan Kopecký, CSc. The Laboratory of Vector-Host Interactions focuses on immunomodulatory effects of *Ixodes ricinus* tick saliva on the host and their role in tick-borne pathogen transmission. The Laboratory has outstanding results and belongs to internationally recognized groups.

The PhD. thesis of Anna Skallová is based on two published papers in high-ranking journals and one manuscript. However she is the author or co-author of six other original papers in parasitology field. The thesis as such is introduced by an excellent overview on biology of tick-borne virus, description of the immune response to the tick infestation, immunomodulatory effects of tick saliva, and last but not least, the role of the dendritic cells. Objectives and particular aims are clearly described being focused on the effects of tick saliva on the dendritic cell phenotype and function. Three major papers on the topic are included and the results are discussed and summarized.

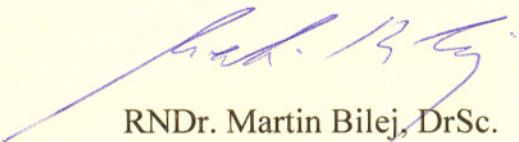
I am convinced that the manuscripts underwent a rigorous per-review process and therefore I would like to ask few general, maybe naïve questions.

- Tick-borne encephalitis virus (TBEV) is spread from Western Europe to Far East being taxonomically classified into three subtypes, namely European, Siberian and Far Eastern. Does it occur in the Indian subcontinent?

- It has been described that saliva in the related tick species *I. scapularis* markedly inhibits NO production by LPS-stimulated macrophages. Are there any data on alternative activation of macrophages and production of arginase?
- TLRs play an important role in the recognition process of TBEV by dendritic cells. Are there any data on the interaction of TBEV with pattern-recognition receptors in tick (Toll homologues, lectins etc.)?

In conclusion, I appreciated to read the thesis of RNDr. Anna Skallová and I can fully recommend it for the fulfillment of the academic degree PhD.

Prague, March 23, 2009



RNDr. Martin Bilej, DrSc.