

Posudek oponenta na bakalářskou práci:

Nádorová imunoterapie založená na kombinaci TLR ligandů a ligandů fagocytárních receptorů

Student: Ondřej Uher

Bakalářská práce s názvem Nádorová imunoterapie založená na kombinaci TLR ligandů a ligandů fagocytárních receptorů navazuje na několikaletý výzkum týmu vedeným RNDr. Janem Ženkou, který se zabývá možnostmi využití mechanismů vrozené imunity v boji proti nádorovým onemocněním. V této práci je studována možnost náhrady LPS bakterií *Borrelia burgdorferi* nebo jiným TLR agonistou, konkrétně imunomodulační sloučeninou Resiquimodem, který je ligandem pro TLR7 a TLR8. Dále je navržen experiment pro studium blokace signálu don't eat me nádorových buněk CD47, konkrétně aptamerem anti-CD47 a monoklonální protilátkou anti-CD47. Třetí část je věnována možnosti ovlivnění exprese fosfatidyserinu na povrchu nádorových buněk. Práce je tematicky zajímavá především z hlediska získání důležitých poznatků pro pochopení mechanismů účinku studované protinádorové terapie.

Bakalářská práce je standardně členěná. Literární rešerše je psána s logickou návazností a relativně stručně popisuje související a důležitá fakta. Z odborného a jazykového hlediska je na dobré úrovni, autor zde také cituje ve velké většině vědecké práce publikované v poslední době, což hodnotím velmi kladně. Kromě několika nepřesných formulací zmíněných dále neobsahuje tato práce vážné faktické chyby.

V praktické části jsou popsány 3 experimenty, které dobře reflektují cíle této práce. Jejich rozsah a uspořádání hodnotím jako dostatečné. Diskuze obsahuje srovnání výsledků s již známými výstupy, u některých tvrzení tu ovšem chybí diskuze a zamyšlení nad možnými příčinami a navržená vysvětlení. Dotazy k těmto výsledkům jsou uvedeny níže.

Rozsah použité literatury (66 zdrojů) hodnotím jako bohatě dostačující pro bakalářskou práci.

Dále bych chtěla zmínit několik ne úplně přesných formulací:

Na str. 4 popisujete funkci nespecifické imunity jako identifikace a odstranění infekčního agens v okamžiku proniknutí do těla. Chybí zde ale zmínka či popis fungování IS i v rámci fyziologické regulace organismu ve vztahu k abnormálním či stárnoucím tělu vlastním buňkám.

Na str. 6 píšete: *Rozpoznáním komplexu (myšleno rozpoznání Tc-lymfocyty) molekuly MHC-I s nádorovými Ag na povrchu APC...* MHC-I glykoproteiny se vyskytují na všech jaderných buňkách organismu. Kterákoli buňka tak jejich prostřednictvím může prezentovat Tc lymfocytům. Pouze přítomnost a prezentace Ag v komplexu s MHC-II je omezena na APC.

Chtěla bych pochválit zařazení a vypracování kapitoly 2.2.2.2 Vztah mezi nádorovým onemocněním a imunitním systémem a kapitoly 5.3 Studium otázky exprese PS na povrchu nádorových buněk pomocí průtokové cytometrie.

K práci mám několik dotazů:

- 1) Zkuste doplnit ještě jeden velmi významný mechanismus úniku nádorových buněk kromě již Vámi zmíněných.
- 2) Jakými receptory je rozpoznán a potažmo vázán fosfatidylserin?
- 3) Zkoušeli jste nahradit LPS kovalentně vázanou bakterií *Borrelia burgdorferi*. LPS bylo používáno ale jako rozpustný signál, proč byla tedy bakterie kovalentně vázána?
- 4) Jaká byla koncentrace použitých protilátek při značení buněk pro magnetickou separaci neutrofilů?
- 5) Byla po magnetické separaci nějakým způsobem kontrolována čistota získané populace? Pro zajímavost, jaká byla výtěžnost při získávání z kostní dřeně?
- 6) U experimentu 1 na str. 21 (kapitola 4.10.1) chybí zařazení kontrolní skupiny samotného redukčního činidla TCEP. Je někde popsán jeho cytotoxický efekt?
- 7) Proč nejsou do experimentu 2 na str. 21 (kapitola 4.10.2) zařazeny skupiny anti-CD47+resiquimod a samotná anti-CD47?
- 8) V kapitole 4.10.3.1 na str. 22 není uveden rozdíl mezi skupinou D a kontrolní skupinou K? Uveďte, k čemu byla použita právě kontrolní skupina K. Stejně tak i str.24 kapitola 4.10.3.2.
- 9) Kapitola 5.2, str. 29 nejvíce metastáz bylo experimentálně zjištěno u skupiny ošetřené Resiquimodem, jak si to vysvětlujete?
- 10) Jak si vysvětlujete zvýšenou expresi PS a kaspázy 3 u skupin B16F10 bez podaných terapeutik ve skupině B a D na str. 32 kapitola 5.3.1, kterou zmiňujete? Stejně tak zmiňujete zvýšenou exprese kaspázy 3 u samotných buněk B16F10 v pokusu v kapitole 5.3.2 na str. 33. Zkuste navrhnout zdůvodnění.
- 11) Jaké jsou další kroky vašeho vědeckého týmu v tomto výzkumu?

Závěrečná práce splňuje všechny prvky bakalářské práce a kromě několika chybějících vysvětlení jí hodnotím jako zdařilou. Závěry a výsledky z toho vyplývající mohou obohatit dosavadní výzkum a pomoci objasnit některé mechanismy účinku. Bakalářská práce, jejíž autorem je Ondřej Uher, **splňuje všechny požadavky** Přírodovědecké fakulty Jihočeské Univerzity. **Doporučuji ji k obhajobě** a navrhuji udělit známku v rozsahu 1 až 2 v závislosti na samotné obhajobě.

V Jindřichově Hradci 23.5. 2015

RNDr. Tereza Hanzalová