



## Oponentský posudek na magisterskou práci

Autorka: **Bc. Eliška Maršálková**

Název práce: **Vliv klišťecích slin na fagocytózu borelií dendritickými buňkami**

Předkládaná diplomová práce se zabývá vlivem klišťecích slin a rekombinantního serpinu na fagocytózu borelií myšimi dendritickými buňkami. Práce má celkem 89 stran a je členěna na kapitoly: Literární přehled, Cíle práce, Materiál a metodika, Výsledky, Diskuze, Závěr, Seznam zkratk a Použitá a doporučená literatura. V těchto oddílech autorka popisuje a diskutuje získaná data formou vědeckého sdělení. Autorka v rámci experimentální práce využila celou řadu metod zahrnujících přípravu dendritických buněk, odběr slin klišťat, vyhodnocení produkce cytokinů a změn exprese genů pomocí nejnovějších molekulárně biologických metod a dospěla k zajímavým výsledkům. Pozitivně hodnotím také využití průtokové cytometrie k měření adheze a fagocytózy borelií dendritickými buňkami.

K práci mám následující připomínky a *dotazy*:

V práci se bohužel občas vyskytují neobratné formulace a chyby jako např.:

- str. 4: ... jedinými **přírodními** vektory ... (přirozenými)
- str. 4: ... *Nuttalliedae* ... (*Nuttalliidae*)
- str. 5: ... **divokých** hlodavců (volně žijících)
- str. 6: ... spirochéty **diseminují** ... (se šíří)
- str. 6: ... je **silně down-regulovaný** ... (snížena jeho produkce)
- str. 12: **Jhbpá** se ... (Jedná se)
- str. 13: ... prezentují **B ly** ... (B lymfocyty)
- str. 16: ... *staphylococcus* ... (*S*)
- str. 29: Buňky **se spočítaly** ... (byly spočítány)
- str. 31: ... buňky **vyderivované** podle ... (připravené)
- str. 36: ... IL-1<sub>α</sub>, IL-1, β ... (IL-1<sub>α</sub>, IL-1<sub>β</sub>) (str. 36)
- str. 44 a 45: ... pak došlo **je** snížení ... (k)
- str. 46: ... v kapitole 3.2.2.1 (3.2.3.1)
- str. 48: ... po stimulaci **borelie** ... (boreliemi)
- str. 52: ... optimalizace **derivate** a .... (přípravy)  
takto **vyderivované**.... **příliš maturované**.... **Dozvěděli jsme se**, že...
- str. 53: „Při samotné měření samotné fagocytózy ...“
- str. 55: Největší **upregulace**... (zvýšení produkce)

Obr. 5 má nízkou kvalitu.

*Zkratku SAT autorka vykládá dvěma různými způsoby (str. 5 a str. 23). Který z nich je správný, případně původní?*

*Autorka uvádí, že OspC je nutný k infikování dalšího hostitele. Proč tomu tak je? (str. 6)*

*V posledním odstavci na str. 19 je uvedeno, že prezentace exogenních antigenů v kontextu s MHCII bývá mnohdy nutná k ... a zároveň i k toleranci vlastních buněk. Mohla by autorka blíže vysvětlit tento fenomén právě ve vztahu k toleranci vlastních buněk?*



Poslední odstavec v kapitole 1.7.2 není podpořen citací. Pokud se jedná o vlastní tezi autorky, měla by být součástí diskuze. (str. 20)

*Firma AnLab je pouze dodavatel myši C57BL/6. Jaký je jejich skutečný původ? (str. 27)*

*Autorka uvádí, že při získávání slin klíšťata inkubovala v CO<sub>2</sub> termostatu. Měla přítomnost CO<sub>2</sub> vliv na množství získaných slin? Jaká byla jeho koncentrace? (str. 27)*

*Borrelia burgdorferi sensu stricto získaná z ATCC by mohla být specifikována specifickým kódem z ATCC.*

Sliny a IRS-2 jsou v práci označeny jako aktivátory, což je dle mého názoru zavádějící termín, zvláště tehdy, pokud je očekávána supresivní funkce. (str. 29)

*V rámci metodiky 3.2.1.2 je uvedeno, že ke všem skupinám DC (kromě negativní kontroly) byly přidány borelie. Znamená to, že nebyl analyzován samotný efekt IRS-2 a slin na DC bez aktivace boreliemi?*

Termín „FACS protilátky“ je vhodný popis na krabičku v lednici a nikoli do odborného textu, zkratka navíc není uvedena v seznamu zkratk. (str. 31)

Věta: „Poté byly borelie naředěny dvojnásobnou koncentrací finální koncentrace v PBS“ je poměrně kostrbatá, lepší by asi bylo uvádět konkrétní číselnou koncentraci. (str. 32)

*Bylo v rámci pilotních experimentů otestováno, zda zbytkový pilokarpin v získaných klíšťecích slinách neovlivňuje výsledky experimentů, kde byly používány sliny?*

Popisek grafu 2 je až na následující straně (str. 38)

*Jak si autorka vysvětluje rozdíl v účinku slin a IRS-2 na produkci IP-10 u DC aktivovaných boreliemi, tedy statisticky významné zvýšení (sliny) a statisticky významné snížení (IRS-2)? (str. 37 graf 2)*

*Jak si autorka vysvětluje rozdíl v získaných datech při adhezi GFP borelií a borelií barvených eFluor670? (str. 44 a 46 graf 8 a 11). Která varianta výsledku je věrohodnější? Proč nebyl v rámci těchto testů (fagocytóza a adheze) použit také IRS-2?*

*V poměrně rozsáhlé diskuzi autorka porovnává získaná data s výsledky jiných autorů zejména ve vztahu DC, klíšťecích slin a borelií. Nevěnuje se však otázce, do jaké míry je výhodné ovlivnění fagocytózy dendritických buněk pro samotného vektora. Proto bych autorku závěrem požádal o odpověď na otázku: „Proč klíště ovlivňuje fagocytózu borelií dendritickými buňkami?“*

Autorka se při vlastní experimentální práci seznámila s celou řadou laboratorních metod a předložila k posouzení s ohledem na získané výsledky velice rozsáhlý spis. Sepsáním předkládané diplomové práce prokázala schopnost samostatné práce s vědeckou literaturou.

Práci **doporučuji k obhajobě** a hodnotím ji stupněm **velmi dobře**.

V Brně 8. 1. 2016

RNDr. Jiří Salát, Ph.D.

**Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci Bc. Elišky  
Maršálkové „Vliv klišťecích slin na fagocytózu borelií dendritickými buňkami.**

Předkládaná diplomová práce má klasické členění. Úvodní literární přehled je velmi kvalitní a rozsáhlý. Přitom veškeré informace jsou naprosto relevantní řešené problematice. Nic nechybí a nic zde není zbytečné. Informace jsou přesné, jasné a logicky uspořádané a podloženy velkým množstvím citací. Úvod je psán dobrou češtinou s minimem překlepů (s výjimkou překlepu na str. 12). K pochopení problematiky rovněž přispívá hojné použití obrázků a tabulek.

Cíle práce jsou stručně a jasně definovány. Metodická část je podrobná a umožňuje komukoli metody pochopit a zopakovat. Snad by bylo jen vhodnější do části metody již znovu nezařazovat informace o materiálu. Metodický rozsah je široký a je velmi pozitivní, že se studentka seznámila s tolika moderními a kvalitními metodami. Snad kromě překlepu (imbrední) a nevhodného způsobu udání koncentrace pilocarpinu, obojí na str. 27, této části nelze nic vytknout.

Byly získány zajímavé výsledky, které jsou vhodně graficky dokumentovány. Rovněž této části je těžké cokoli vytknout, snad jen, že není třeba se odvolávat na příslušné kapitoly v metodikách a když, tak třeba přesně.

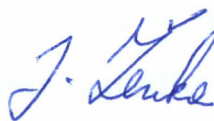
Diskuze na sedmi stranách je vyvrcholením práce a je třeba velmi ocenit nejen její rozsah, ale množství odkazů a srovnání výsledků jak s výsledky laboratoře, tak s literaturou.

Závěry přesně odrážejí a naplňují cíle. Seznam použité literatury má neuvěřitelných 279 položek. Kromě toho, že čtyři citace jsou zde uvedeny dvakrát a kromě několika chybějících teček za citacemi této části opět nelze nic vytknout.

Otázky:

- 1/ Jak si vysvětlujete odlišnost výsledků studia vlivu klíštěcích slin na adhezi borelií při použití GFP borelií a a borelií barvených eFluor 670?
- 2/ Jakým způsobem bude pokračovat tento směr výzkumu?
- 3/ Problematika vlivu klíštěcích slin na imunitní systém nabízí obecně velké množství perspektivních klinických aplikací. Ke kterým aplikacím by mohl mít blízko výzkum řešený ve Vaší diplomové práci?

Závěr: Předkládaná práce je velmi kvalitní a splňuje veškeré požadavky kladené na magisterské diplomové práce na PŘF JU. Navrhuji hodnocení stupněm „výborně“.



RNDr. Jan Ženka, CSc.

V Českých Budějovicích 7.1.2017