

## Posudek diplomové práce Biancy Porubské s názvem „Studium mechanismů přežívání Sertolliho buněk v xenogenním organizmu“.

V této obhajované „xenotransplantační“ diplomové práci se autorka zaměřila na osud/přežívání fluorescenčně značených testikulárních Sertolliho buněk (TSC) izolovaných žáby *Xenopus tropicalis* a intraperitonálně aplikovaných do neonatálních myší a na možný vliv těchto implantovaných TSC na imunitní systém (IS) těchto neonatálních myší. Formálně je tato diplomová práce klasicky členěná s velmi informativním a čtivě koncipovaným literárním přehledem, dále přehlednou a dostatečně detailní metodickou částí následovanou přehledem vlastních výsledků a relevantní diskuzí. Výsledková část je pak shrnuta v závěrečných 8 bodech.

Esenciální část diplomové práce s ní spjaté diskuze obsahuje celkem 14 obrázků a lze jí formálně rozdělit do 3 podčástí – a/ sledování a analýzy vlivu xenotransplantátů TSC v neonatálních myších, b/ analýzu vlivu izolovaných žabích TSC na myší makrofágy in vitro a c/ testování vlivu podkožních xenotransplantátů žabích TSC u dospělých myší na buňky IS. V části a/ výsledků se ukázalo, že intraperitoneálně implantované žabí TSC infiltrují do 72 h až 7 dnů zejména plíce a thymus avšak jejich vliv na IS je kromě poklesu Th1 a lehkému nárůstu Th2 cytokinů minimální (např. žádná ovlivnění Treg – zřejmě kvůli ještě nedovyvinutému IS). Následná in vitro stimulace slezinných buněk izolovaných z 30 denních myší potvrdila zvýšenou expresi zejména Th2 cytokinů IL-4 a IL-10. V části věnované vlivu TSC na izolované či diferencované makrofágy měly TSC kokultivované s peritoneálními makrofágy pozitivní vliv na jejich M2 polarizaci. A v neposlední řadě v mnou formálně definované c/části této práce podkožně implantované žabí TSC u dospělé myši indukovaly jak Treg tak i Th2 polarizaci, přičemž vliv toho zda tyto myši jako neonatální přišly do kontaktu s žabími TSC byl minimální či spíše negativní. Zjevně jako take-home message z této práce lze odvodit, že TSC i z tak distálních obratlovců jakými jsou žáby mohou v savcích indukovat projevy imunitní tolerance a mohou být využity pro studium mechanismů této tolerance.

Celkově je diplomová práce Biancy Porubské velmi dobře vypracována a prezentována (až na pár formálních prohrážek) a její výsledky přispěly ke studiu TSC a imunotolerance.

### Poznámky a dotazy:

1. U obrázků v literárním úvodu by se pokud jsou převzaté každopádně měl uvádět jejich zdroj - např. Obr. 1 pochází původně z publikace G. Kaur et al., *Seminars in Cell & Developmental Biology* 30 (2014) 36–44.
2. Str. 18 má spíše být „ktorá indukuje produkciu solubilnej formy Fas“ a ne FasL.
3. Materiál a metody část 4.1 – byly stabilní transfektanty TSC s mKate Red vyselektovány pomocí FACS obdobně jako v publikaci Tlapáková et al., 2016?
4. Obecně diskord v číslování obrázků - např. v části Materiál a metody jsou dva obr. č. 3 (str. 25 a 41) plus číslování obrázků v části výsledky neodpovídá číslům obrázků v textu...
5. Na několika místech přehlédnuto typy - např. str. 34 „Pomocou oho kitu“ – má být tohoto...
6. Kde se bere červená fluorescence u CD45+ buněk (tj. myších buněk IS) na obr. 3 – str. 41 (0,14% - autofluorescence)? Dále pokud jsou výsledky v obr. 3 na str. 41 relevantní tak mi vychází zastoupení RFP+ v CD45- buňkách jen na cca. 0,1% - k jakému dni p.i. se vztahují?
7. Obr. 6 na str. 45 je špatně popsán - A. mají být ledviny a B. pak thymus. Také procenta u obr. 5B (TSC ledviny - 0,6%) nekorelují se sloupcovým grafem na předešlé straně.
8. Proč nejsou u neonatálních myší aktivovány Treg, kdežto u podkožních implantací žabích TSC aktivovány jsou?

