



Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno oponenta: RNDr. Karel Drbal, Ph.D

Datum: 21. 1. 2019

Autor: Bc. Hana Pilná

Název práce:

Vliv interferon regulujícího faktoru 3 na imunitní odpověď proti viru vakcínie v atopickém organismu

Souhrn:

Předložená diplomová práce zpracovává na 80 stranách českého textu, celkem na 24 obrázcích a 14 tabulkách problematiku indukce přirozené imunitní reakce ektopicky kódovaným *Irf3* v rekombinantním viru vakcínie (VACV), a to *in vitro* v buněčných liniích a *in vivo* na myším atopickém modelu Nc/Nga a kontrolním kmenu Balb/c. Tato práce na pomezí virologie, buněčné biologie a imunologie obsahovala velké množství technik, které musela autorka zvládnout.

Výsledky byly detailně popsány a interpretovány. Zvýšená exprese IRF3 korelovala především s expresí IFNB1 a dále autorka detegovala problematickou expresi klíčového prozánětlivého cytokinu IL1B a zvýšenou apoptózu.

Vakcinační experimenty *in vivo* potvrdily předpoklad, že ektopická exprese *Irf3* povede k protekci proti letální dávce po intranasálním a intradermálním podání a také k rychlejší eliminaci i.d. injikovaného viru, který 9. den po inokulaci již nebyl detegovatelný. Protektivní efekt koreluje s funkcí a expresí IL12 a IL17A a posiluje Th1 a Th17 odpověď.

Detailní analýza dat i návrh a provedení vlastních experimentů bylo velmi kvalitní, nemám k němu výhrad až na malé výjimky. K čemu výhradu mám je nedodržování konsenzu psaní genových a proteinových názvů u myši. Naopak velice pozitivně hodnotím diskuzi.

Ze 144 citací jsou pouze čtyři citované i v Bakalářské práci na téma vakcín založených na viru vakcínie. Vysoce cením to, že autorka nepoužila tyto zdroje i v diplomové práci, a naopak provedla aktualizaci tématu v Úvodu.

Kontrola plagiátu v Turnitin neobjevila žádné pochybení.

Cíle práce:

Zadání práce bylo v SIS uvedené a autorka v kapitole 2 své cíle detailně popisuje a následně i diskutuje.

Struktura práce:

Předložená diplomová práce má klasické členění a poskytuje rychlou orientaci. Informace jsou podané na správném místě a jsou snadno dohledatelné.

Formální úroveň:

Z formálního hlediska v práci mnoho informací nechybí. Nicméně je dobré koncentrovat informaci tam, kam patří, například v legendě k obrázku. Hodnoty je lepší vynášet v grafu jako absolutní spíše než relativní.

Níže uvádím moje konkrétní výhrady:

- ve zkratkách nemají být náhodně vybrané genové názvy
- u chemikálií (Materiál a metody) chybí katalogová čísla
- experimenty musí být hlavně reprodukovatelné, a tedy důležité nepublikované unikátní reagenty zde musí být plně uvedené. Například se zde jedná o mapy plasmidů, na kterých je celá práce založená – nestačí sdělit pouze: „pcDNA3-IRF3 připraven Mgr. Knitlovou; nepublikované výsledky a pcDNA3-Luc připraven Dr. Mělkovou; nepublikované výsledky“. Hlavně pro vlastní biologický materiál musí být uvedený celý detail.

Věcné chyby:

Autorka nepoužívá oficiální genové názvy! V práci dokonce ani nemá konzistentní název hlavního předmětu studia – IFR3. Zásadně nepoužívá správnou konvenci pro geny/transkripty/proteiny u myši. Při stálém střídání detekce transkriptu a proteinu se text stává místy nepřehledný. Dodržení jednoduché konvence transkript (*Irf3*) a protein (IRF3) by text učinilo přehlednějším.

Jazyková úroveň:

Jazyková kvalita je velice dobrá a vědecký styl odkazů a logické návaznosti autorka zvládla.

Citace:

Autor cituje 144 publikací s minimem formálních chyb. Autorka sice cituje současné zdroje, ale za poslední dva roky pouze pět citací. To by chtělo aktualizovat.

Celkové hodnocení:

Předloženou diplomovou práci hodnotím jako výbornou.

Doporučení:

Doporučuji práci k obhajobě a autorce navrhuji udělení titulu Mgr.

Otázky:

1/ Jaký rozdíl by autorka očekávala při polarizované produkci IL1B versus IL18 během i.n. podání VACV?

V Úvodu popisujete jejich vzájemnou souvislost. Proč nebyl použita detekce IL18, když víte, že je jedním z genů poblíž *derm1* lokusu Nc/Nga atopického myšního modelu?

2/ Důležitou částí práce jsou expresní hodnoty transkriptů a proteinů. Ty jsou v práci poměrně chaoticky dokumentované – normalizace na jediný housekeeping gen (GAPDH), který je diametrálně více exprimovaný (o více jak 10 Ct), jiné škály y-osy, někde chybí exprese proteinu, jinde jsou různé experimentální podmínky. Jsem přesvědčený, že právě takovou syntetická dovednost je nutné v práci ukázat. Pokuste se vše porovnat na jednom obrázku pro NIH-3T3 buňky a pro J774.G8 linii – pro transkript i pro protein IL1B.

3/ V souvislosti s otázkou č. 2 mě zajímá, jak vysvětlíte rozpor mezi Obr. 8, kde popisujete IRF3-závislou zvýšenou expresi *IL1B* v NIH 3T3, ale nebyly zde detegované pro-IL1B a IL1B proteiny oproti situaci v J774.G8 (Obr. 16 a 17A)? Kterou komponentu si myslíte, že NIH 3T3 buňky postrádají? Jak vysvětlujete extrémní množství IL1B u kontroly č. 2 (Obr. 17B), respektive rozdíl mezi oběma kontrolami?

4/ Důležité je ukazovat i negativní výsledky a komentovat je. Většina Vašich dat pochází z analýzy transkriptů, ale v komentáři mnohokrát zmiňujete, že to přímo nesouvisí s úrovní exprese proteinů. Proč jste se více nebo výhradně nevěnovala právě detekci proteinů?



RNDr. Karel Drbal, Ph.D

Praha, 21. 1. 2019

Katedra buněčné biologie
Přírodovědecká fakulta
Univerzita Karlova v Praze
Viničná 7, 128 43 Praha 2
Česká republika

email: karel.drbal@natur.cuni.cz

web: www.natur.cuni.cz/biologie/bunecna-biologie/pracovni-skupiny/Molekularni_dynamika_imunitni_odpovedi