

## Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele: RNDr. Jana Kamanová, Ph.D.

Datum: 06.07.2020

Autor: Bc. Daniel Štipl

Název práce: Interakce lidského patogenu *Bordetella pertussis* s krevním sérem

**Cíle práce:** Cílem práce bylo studovat vliv krve a jejích složek na bakterii *B. pertussis*. Specificky se jednalo o určení vlivu krve na aktivaci sekrečního systému typu III, a definici role transkripčního faktoru BP0209 rodiny GntR v regulaci funkce tohoto systému. Vzhledem k technické náročnosti delece genu BP0209 v *B. pertussis* Tohama I si práce kladla za cíl charakterizovat roli homologního genu BB0302 u příbuzné bakterie *B. bronchiseptica* RB50. Dalším z cílů práce bylo charakterizovat citlivost *B. pertussis* k baktericidní aktivitě lidského séra.

**Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému?** ANO

Rozsah práce (počet stran): 99 stran celkem z toho literární přehled 29 stran, materiál a metody 28 stran, výsledky 13 stran, diskuze 9 stran

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova? ANO

Je uveden seznam zkratk? ANO

**Literární přehled:**

Odpovídá tématu? ANO

Je napsán srozumitelně? ANO

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO, avšak v některých místech práce nejsou literární zdroje citovány bezprostředně za informací, ale až na konci daného paragrafu bez jasného vztahu k větě, která předchází, např. str. 24, první odstavec

**Materiál a metody:**

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito? Více než 20

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

**Experimentální část:**

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO - v čem jsou nedostatky?

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky?

ANO – co chybí, v čem je nedostačující?

**Diskuze:**

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO

**Závěry (Souhrn) :**

Jsou výstižné? ANO

**Formální úroveň práce** (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Formální úroveň předkládané práce je velmi dobrá. Ráda bych vyzvedla kvalitu převzaté obrazové dokumentace v literárním přehledu, která disponuje dostatečným rozlišením a také českým překladem jednotlivých popisků. Vynikající jsou rovněž obrazová schémata prováděných experimentů v oddílu materiál a metody. Ve výsledkové části stojí za zmínku nechybějící statistické zhodnocení získaných dat, a uvedení statistické metody testování. U některých obrázků jsem však postrádala uvedení velikosti souboru dat, resp. počtu opakování daného experimentu, a definici toho zda chybové úsečky představují S.D. nebo S.E. Jazykovou úroveň předkládané práce hodnotím rovněž velmi dobře. Práce obsahuje jen minimum krkolomných formulací, a četla se mi velmi dobře. Ve výsledkové části bych možná uvítala lepší pojmenování jednotlivých obrázků, kdy nadpis obrázku shrnuje výsledek experimentu namísto formulací typu: "Obrázek graficky znázorňuje poměrné množství mRNA...", toto je však jen otázkou osobní preference.

**Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

Předkládaná práce se zabývá velice aktuálním tématem a splnila cíle, které si kladla. Přestože je práce deskriptivní, a obsahuje dílčí cíle, které spolu souvisí jen velmi volně, bezpochyby definuje základy budoucího výzkumu, a považuji ji za velice cennou. Daniel prokázal porozumění tématu, schopnost kritického uvažování a zhodnocení výsledků.

**Otázky a připomínky oponenta:**

1. Mohl byste spekulovat o důvodu rozdílného vlivu krve na aktivaci sekrečního systému typu III (T3SS) u *B. pertussis* Tohama I a *B. pertussis* B1917? Dle Vašeho názoru se jedná o mutaci *B. pertussis* Tohama I, která vznikla pasážováním tohoto kmene v laboratoři či se jedná vlastnosti linie *B. pertussis* (*ptxP1-ptxA2*) kam patří kmen Tohama I ve srovnání s linií *B. pertussis* (*ptxP3-ptxA1*) s reprezentativním kmenem B1917?
2. Ve stejném duchu, mohl byste spekulovat o komponentě krve, která aktivuje sekreční systém typu III u *B. pertussis* Tohama I a možném rozpoznání této komponenty? Přemýšlel jste o zapojení proteinů BtrU-BtrV-BtrW v této regulaci?
3. Pokoušel byste se charakterizovat mutantní kmen *B. bronchiseptica* RB50  $\Delta BB0302$  ve srovnání s wild type kmenem z hlediska rozsahu aktivace T3SS vlivem krve? Myslíte, že tento experiment má smysl? Pravděpodobně budete souhlasit, že vzhledem k jisté variabilitě regulace T3SS u rodu *Bordetella* je velmi složité vyvozovat jakékoliv závěry z těchto experimentů. Co přesně byla Vaše představa funkce homologního genu BP0209 v *B. pertussis* na molekulární úrovni? Předpokládal jste mechanismus závislý či nezávislý na *btrS* genu?
4. Při testování resistance studovaných kmenů vůči baktericidním účinkům séra jste rozdělil testované kmeny do 3 skupin, viz. obr. 22. Rozumím tomu správně, že každý bod v tomto obrázku odpovídá jednomu kmeni? A tudíž v současné populaci klinických izolátů je možné definovat kmeny s vysokou rezistencí a rovněž kmeny s rezistencí obdobnou rezistenci vakcinačních kmenů? Vzhledem k množství testovaných kmenů, domníváte se, že je správné z těchto experimentů vyvozovat nějaké závěry? Máte nějaké pracovní hypotézy molekulárního mechanismu zvýšení resistance u současných klinických izolátů, např. zvýšení exprese Vag8 apod.?

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta:

*Jana Kavanová*