

Posudek oponenta na doktorskou disertační práci Blanky Andersson nazvanou „Study of gene expression during interaction between a eukaryotic cell and intracellular bacterium *Francisella tularensis*“.

Ve své disertační práci se kandidátka pod vedením zkušeného a renomovaného vědeckého pracovníka doc. MUDr. **Jiřího STULÍKA**, CSc. (Ústav molekulární patologie, Vojenská lékařská akademie JEP, Hradec Králové) věnovala velmi závažnému a rozsáhlému tématu interakce hostitele s patogenem *Francisella tularensis*.

Doktorská disertační práce **Mgr. Blanky Andersson** je předkládána v rozsahu 100 stran a naplňuje představy posuzovatele na disertační práci.

(1) Práce se zabývá důležitým tématem současné biologie, mezi které mechanismy interakce patogenu s hostitelskou buňkou nepochybně patří. Bakterie *Francisella tularensis* patří navíc mezi obávané patogeny způsobující závažná onemocnění s vysokou úmrtností v případě nedostupnosti efektivní chemoterapie.

(2) Práce řeší vytčené problémy s použitím adekvátních nejmodernějších metod odrážejících aktuální stupeň vědeckého poznání. Mezi pokročilé metody používané v práci patří čipové technologie včetně samotné konstrukce cDNA-čipu i kvantitativní PCR v reálném čase. Velmi cenný je široký rozsah metod při sběru dat: kandidátka zvládla mimo bakteriálních kultur a kultur myších makrofágů (buněčné funkční testy in vitro) i práci na myším modelu, kde používala virulentní bakteriální kmen (porovnání rozdílné exprese genů a histopatologických změn v plicích myši po aerosolové infekci in vivo) a práci završila i sběrem dat ze vzorků od reálných pacientů, které použila pro studii s použitím mikročipů firmy Affymetrix. Možnost aplikovat nejmodernější metody na studium vytčených problémů ukazuje především na kvalitu laboratoře a jejího zázemí i schopnost kandidátky tyto možnosti plně využít.

(3) Doktorská práce je souborem čtyř publikovaných sdělení v mezinárodních časopisech, publikovaných v letech 2002-2006.

(4) Práce je kompaktním útvarem, je přehledná s dobře sepsanou úvodní kapitolou. Kapitola „Materiál a metody“ obsahuje všechna potřebná data, výsledky jsou sepsány přehledně a v logickém sledu

(5) Práce je sepsaná v kvalitní angličtině.

Připomínky a otázky do diskuse

V disertační práci mi chybí vymezení podílu autorky na jednotlivých pracích. Celá disertační práce je pojata jako soubor 4 publikací na kterých je řada spoluautorů, z nichž každý má na práci svůj významný podíl.

Otázka do diskuse (1):

Data získaná pomocí cDNA čipové technologie (například regulace cytokinů) nejen objasňují děje v buňce při interakci s tímto patogenem a klíčové strategie tohoto patogena, ale jsou také v dobré korelaci s klinickým pozorováním. To je zároveň dobré ověření kvality vaší práce. Domníváte se, že bude v budoucnosti možné využít vašich dat nejen k popisu dějů při infekci probíhajících, ale také k jejich ovlivnění ve prospěch pacienta? Která cesta se vám jeví jako nejnadějnější?

Otázka do diskuse (2):

Ve své práci se zabýváte klastrováním genů podle jejich regulace. Do jaké míry může do této metody zasahovat prostá náhoda při seskupování velkého počtu dat a do jaké míry jde o spolehlivou metodu pro odhalení spolupracujících proteinů či důkaz posunu v aktivitách buňky? Co všechno bylo možné ze skupin genů získaných klastrováním odvodit? Uveďte nejzřetelnější příklad, kdy bylo genové klastrování schopno odpovědět na některou z vašich otázek.

Otázka do diskuse (3):

Ve své práci otištěné v *Journal of Medical Microbiology* (2006) používáte myší buňky J774 a DNA mikročipy s 20 600 klony reprezentujícími 18 500 genů, v *Genes and Immunity* (2006) používáte mikročipy od firmy Affymetrix se 14 500 lidskými geny. Můžete porovnat shodu těchto skupin genů ovlivněných stejným patogenem s podobnou prací z literatury zabývající se odpovědí lidského hostitele na jiného bakteriálního patogena? V diskusi je zmíněno porovnání počtu ovlivněných genů jako reakce na různé patogeny, ale bez porovnání různě ovlivněných skupin genů a logických závěrů (či teorií) z toho plynoucích. Čím je odpověď na *Francisellu tularensis* specifická?

Závěrem konstatuji, že předkládaná doktorská práce dosahuje vysokých kvalit, a to i tehdy, jestliže vezmu v úvahu dokonalé zázemí vytvářené prostředím školitelské laboratoře. Práce prozrazuje píli, pečlivost a tvůrčí invenci kandidátky. Z výše uvedených důvodů **doporučuji přijmout práci k obhajobě.**

V Praze dne 31.5.2007

RNDr. Irena Linhartová CSc.