



Prof. RNDr. Karel Bezouška DSc.  
**Katedra biochemie**  
Univerzita Karlova Přírodovědecká fakulta  
Hlavova 8  
12840 Praha 2

Tel. +2-2195-1272 Fax.+2-2195-2331  
E-mail: [bezouska@biomed.cas.cz](mailto:bezouska@biomed.cas.cz)

### **Posudek oponenta na diplomovou práci Moniky Bambouskové nazvanou „Změny v topografii signálních molekul při aktivaci žírných buněk“**

Diplomová práce Moniky Bambouskové se zabývá aktuální a zajímavou problematikou topologie membránových receptorů a s nimi asociovaných molekul důležitých v buněčné signalizaci. Tato oblast zůstává v současné době jedním z “horkých” témat imunologického a biomedicínského výzkumu zejména proto, že naše znalosti molekulárních a buněčných mechanismů odpovědných za fungování klíčových receptorů buněk imunitního systému jsou stále nedostatečné. Přitom je jejich znalost klíčová pro naše porozumění imunitnímu systému za normálních, ale zejména za různých patologických stavů spojených například s imunodeficiencemi, autoimunitními stavy a maligními onemocněními.

Práci Moniky Bambouskové považuji za mimořádně zdařilou, a to jak po obsahové tak i po formální stránce. Svým rozsahem a množstvím získaných výsledků má spíše charakter doktorské dizertační práce, jíž se může snadno stát, jakmile bude řada kandidátkou získaných a v práci pečlivě popsanych výsledků publikována. Rozsah získaných výsledků, ať již v oblasti metodických aspektů aplikace transmisní elektronové mikroskopie při studiu topografie membránových molekul, nebo v oblasti určení topologie receptorů Kit a FcεRI (kdy výsledky dokonce vedly k formulování zcela nového modelu signalizace prostřednictvím posledně jmenovaného receptoru), je opravdu mimořádný. Přitom je však práce též mimořádně čtivá, psaná velmi pěkným jazykem jen málo ovlivněným přejímáním anglicismů z původní literatury (zaznamenal jsem pouze Proteinové “rekogniční” kódy), navíc při zachování velmi vysoké úrovně vědeckého vyjadřování a vědecké přesnosti charakteristické pro odborný styl.

V práci jsem zaznamenal pouze naprosté minimum překlepů a nepřesností, které se vyskytovaly jen velmi sporadicky. Například na str. 33 mi nebylo úplně jasné, proč autorka nazývá 0.11 M roztok kyseliny octové acetátovým pufrem, na str. 41 má být “emisní filtr”, kyveta na str. 43 měla být snad polyalomerová. Naprosto minimálně se vyskytly nepřesnosti v citování literatury (např. u Cit. 64 by měla být zkratka časopisu *Immunol. Res.*, a u Cit. 65 *Sem. Immunol*), jinak je však naprostá většina všech 114 literárních odkazů citováno vzorně, a autorce se podařilo mne beze zbytku přesvědčit o tom, že je opravdu čtla.

Ke kandidátce a její práci mám následující připomínky a dotazy:

1. Můžete uvést, jaká byla metoda radioaktivního značení IgE radioisotopem jodu (str. 43)?
2. Při separaci v preparativní ultracentrifuze uvádíte nastavení na 210 000 g po dobu 5 hodin. Jsou takové podmínky dostatečné, aby došlo k separaci (“vyplavání”) analyzovaných membránových mikrodomén?
3. Překvapila mne velmi vysoký stupeň aktivace žírných buněk (str. 54) ve srovnání s pozitivní kontrolou po lýze buněk Tritonem X-100. Je takto vysoký stupeň aktivace u studovaných buněk běžný?

4. Zajímalo by mne, jaký je molekulární mechanismus aktivace buněk pervanadátem (vanadičnanem)? Je inhibice tyrosinových fosfatů touto látkou jediným důvodem jejich výrazných efektů na aktivaci žírných buněk, nebo se může uplatnit ještě jiný efekt této anorganické látky na jiné enzymy nebo buněčné procesy?

Závěrem je možné shrnout, že se kandidátce podařilo získat velké množství vědecky hodnotných výsledků, a tyto po formální stránce vynikajícím způsobem prezentovala v předložené diplomové práci. Diplomová práce tedy splňuje veškeré náležitosti, a proto ji doporučuji přijmout k obhajobě na katedře biochemie Univerzity Karlovy Přírodovědecké fakulty.

V Praze dne 5. května 2009

Prof. RNDr. Karel Bezouška DSc.