

POSUDEK NA DIPLOMOVOU PRÁCI Bc. ZUZANY KERDÍKOVÉ

Bc. Zuzana Kerdíková předkládá k obhajobě práci s názvem "Expresní analýza nových B buněčných populací FO buněk charakterizovaných nepřítomností molekuly CD27 a nízkou expresí CD38 molekuly". Práce byla vypracována na Biotechnologickém ústavu AV ČR v Laboratoři imunoterapie a imunopatologie, pod vedením RNDr. Šárky Růžičkové, Ph.D. Hned na úvod je potřeba říci, že **práci považuji za velmi kvalitní a její vědecký přínos za velmi cenný**. Autorka se v práci zabývá detailním popisem subpopulací B buněk, které ještě nebyly nikdy v literatuře popsány ani u člověka ani u myši. Jedná se tedy skutečně o novátorskou práci a objevy v ní popsané jsou první svého druhu. Práce tak nejen beze zbytku splnila zadané cíle, ale v mnohém je, dle mého názoru, i překročila.

Práce je členěna klasicky na kapitoly Úvod, Literární přehled, Materiál, Metody, Výsledky, Diskuse, Závěr, Přehled literatury a Přílohy práce. Celkem, včetně příloh, má práce 138 stran.

Práce splňuje formálními požadavky fakulty na tento typ práce. Stylistická i pravopisná úroveň je dobrá, i když autorce sem tam unikly některé překlepy (např. izotopový přesmyk na str. 25) a stylistické nesrovnalosti (první věta českého abstraktu). Grafy a tabulky jsou přehledné a jsou vhodným doplněním textu, drobnou výhradu bych měla jen ke grafům Obr. 48 a 49, kde bych doporučovala změnit měřítko tak, aby byly grafy přehlednější.

Literární přehled je dobře napsaný a zahrnuje všechny důležité výchozí poznatky pro další části práce. Šíře literárního přehledu odpovídá skutečnosti, že autorkou popisované typy B buněk jsou v této práci popsány vůbec poprvé a pro hypotézy vzniklé v průběhu práce je tedy obtížné hledat podklady ve stávající literatuře.

Metodicky je práce na vysoké úrovni. Autorka používá celou řadu náročných a pokročilých metod (např. multiparametrická FACS analýza, RT-PCR na úrovni jedné buňky, analýza genomů B buněk). Z výsledkové části práce je patrné, že autorka dokáže tyto metody nejen zreprodukovat, ale že i plně porozuměla jejich principům a dokáže je použít jako účelný nástroj pro svůj výzkum.

Výsledky jsou detailně a přehledně popsány. Oceňuji, že popisované B buněčné subpopulace byly popsány skutečně do hloubky a na mnoha úrovních. Z množství výsledků a jejich kvality lze usuzovat, že uchazečka se věnovala práci v laboratoři velmi pilně a systematicky. Diskuse je kvalitní a věcná, nabízí hypotézy k dalšímu výzkumu.

Literární přehled obsahuje úctyhodných 262 citací. Citace jsou použity správně, v textu jsou řádně citovány. Literatura je relevantní a recentní.

K práci mám následující otázky:

1. Uvádíte, že CD5+ B buňky se často nacházejí ve zvýšeném množství v periferní krvi u pacientů s autoimunitním onemocněním. Jejich přirozenou funkcí je ale zřejmě negativní regulace imunitní odpovědi produkcí IL-10. Jak si tento zdánlivý rozpor vysvětlujete. Co je v literatuře známo o roli CD5+ buněk u pacientů s autoimunitou?

2. Na str. 58, obr. 20 uvádíte příklad multiparametrické cytometrické analýzy. Můžete, prosím, popsat jakým způsobem jste postupovali a proč jste v daném okamžiku volili ten který znak?

3. V grafech na str. 72 a 74 ukazujete zastoupení IgM a IgG transkriptů u FO I respektive FO II buněk. Jak si vysvětlujete jednoznačně vyšší zastoupení všech sledovaných transkriptů u pacienta se SLE v porovnání se zdravými kontrolami a pacientem s RA, jestliže u všech sledovaných osob bylo na počátku sortováno stejné množství B buněk?

4. Na straně 94 a 96 ukazujete aktivitu TdT a RAG u FO I a FO II buněk. Jak si vysvětlujete, že aktivita TdT je pozorovatelná pouze v buňkách izolovaných z pacienta s RA, nikoli ze SLE (ačkoli u tohoto pacienta podle dalších známek šlo o aktivní stádium choroby)?

Závěr:

Práce splnila všechny zadané cíle. Jedná se o práci velmi systematickou, která poskytuje hloubkový vhled do problematiky a bude výborným podkladem pro publikaci uvedených dat. Práci jednoznačně doporučuji k obhajobě a navrhuji hodnotit známkou "výborně".

V Praze 4.9.2012

RNDr. Alena Morávková, Ph.D.