

V Praze 24. listopadu 2011

Posudek k disertační práci Vladimíra Vrby:

**UPLATNĚNÍ METOD MOLEKULÁRNÍ A BUNĚČNÉ BIOLOGIE VE VÝZKUMU
PRVOKŮ *EIMERIA***

Disertační práce Vladimír Vrby je založena na třech tematicky příbuzných publikacích. Je opatřena krátkým obecným úvodem, následuje rozbor současného stavu problematiky, stanovení cílů, poté několikastránkové komentáře k jednotlivým publikacím a závěrečný souhrn výsledků. Publikace jsou k práci přiloženy na závěr jako příloha. Taková struktura disertační práce je podle mého názoru dost neobvyklá, zejména pak komentáře k publikacím, ve kterých autor stručně převyprávěl přiložené články. Osobně upřednostňuji formu, kdy hlavní kapitola práce představuje přehledný text (publikovatelné review) shrnující dané téma včetně vlastního příspěvku autora. Dále v práci postrádám závěrečný výhled do budoucna, jak a kudy se dál ubírat. Práce je psána v anglickém jazyce. Text je čtivý, stručný a výstižný, i když trpí jazykovými nedostatky způsobenými tím, že autor není rodilý mluvčí (používání členů atp.). Tyto nedostatky mě osobně, jako nerodnému mluvčímu, vlastně tolik nevadily, nicméně jazyková korektura by práci prospěla.

Nyní, konečně, k věcnému obsahu práce. Práce se věnuje diagnostice a taxonomii kuřecích a krůtích kokciidií. Z tohoto pohledu mi připadá poměrně nepřiléhavý a příliš obecný její název. To ovšem nijak nesnižuje dosažené výsledky, které jsou dobře podložené a jistě naleznou v brzké době uplatnění v diagnostické praxi a vývoji vakcín proti těmto hospodářsky významným parazitům. V tom ostatně shledávám hlavní přínos předložené práce. Produktivita 3 publikace za 7 let postgraduálního studia je poměrně nízká a byla zřejmě způsobena změnou tématu, ke které během studia došlo. Počet publikací však, pokud se nemýlím, splňuje kritéria pro disertační práci.

V první publikaci se autorům povedlo sestavit diagnostický panel genetických markerů pro kuřecí eimerie. Všechny markery jsou přísně specifických pro své druhy a zároveň rozpoznávají všechny testované kmeny z různých částí světa. Navíc jsou přítomny v jedné kopii v genomu a lze je použít pro kvantifikaci oocyst ve vzorku. Tato práce podle mého názoru nemá chybu a napadají mě v souvislosti s ní dva dotazy.

- Jako člověka pohybujícího se v oblasti základního výzkumu, by mě zajímalo, co je ještě třeba udělat, aby Vámi navržené markery začaly být využívány v diagnostických

laboratořích? Plánujete některé z těchto markerů patentovat? Připravujete komerční diagnostický kit založený na těchto markerech?

- Nejen pro hledání diagnostických markerů, ale obecně pro výzkum eimerií by bylo přínosem znát kompletní sekvenci genomu některého druhu. Jak to vypadá v tomto směru? Běží genomový projekt na některém druhu eimerie? Který druh by bylo podle Vašeho názoru vhodné osekvenovat? Je známa velikost genomu eimerií?

Také druhá publikace stojí podle mého názoru na velmi pevných základech. Zcela jednoznačně ukazuje, že *Eimeria mitis* obsahuje dva sekvencně odlišné typy genu pro 18S rRNA, což je poměrně neobvyklý fenomén. Existence tohoto polymorfismu zavedla příčinu pro odlišení druhu *Eimeria mivati*. Z publikované práce však vyplývá, že tento druh neexistuje. To má kromě taxonomických důsledků také dopad na vývoj antikocidiálních vakcín. K této publikaci bych měl také dva komentáře.

- Proč jste nepřikročili k taxonomické revizi těchto druhů, tedy zrušení sloučení *E. mivati* a *E. mitis*.
- Hypotetizujete, že různé typy rRNA by mohly být používány v různých stádiích životního cyklu. V čem by mohlo být pro parazita výhodné mít dva typy ribozomů?

Třetí publikace se zabývá podobným problémem. Snaží se ukázat, že dva kmeny *Eimeria adenoides*, které se významně liší velikostí oocyst, patří do jednoho druhu. Závěry této publikace jsou podle mého názoru nejméně podpořené. Podařilo se sice ukázat, že oba kmeny se chovají podobně v hostiteli, že sekvence 18S rRNA jsou velice podobné a že mezi kmeny existuje výrazná zkřížená imunita, ale přesto se třeba mít na paměti, že sekvence 18S rRNA nebyly identické, v sekvencích ITS oblastí se kmeny výrazně lišily a že imunitní reakce proti kmenu, kterým byl hostitel imunizován, byla přece jen vyšší než proti druhému kmenu. Narýsovat hranici mezi dvěma druhy je notoricky obtížný problém už jen z důvodu obtížné definice druhu jako takového. V této souvislosti bych se chtěl zeptat na dvě otázky.

- Jsou známy kmeny *Eimeria adenoides*, které by vykazovaly přechodné znaky (velikost oocyst, sekvence genů) mezi dvěma studovanými kmeny KR a KCH?

- *Eimeria* je obligátně sexuální druh. U takového druhu je v principu snadné uplatnit biologický koncept druhu. Mohl byste navrhnout experiment, který by jasně ukázal, že tyto dva kmeny skutečně patří do jednoho biologického druhu.

Na závěr bych chtěl konstatovat, že předložená práce splňuje kritéria pro disertační práci, a proto navrhuji udělit Mgr. Vladimíru Vrbovi na jejím základě akademický titul „philosophiae doctor“ (“PhD.”).

Vladimír Hampel