

Oponentský posudek na diplomovou práci

Jméno oponenta: doc. RNDr. Jan Brábek, PhD.

Datum: 29.8.2013

Autor: Klára Kotlabová

Název práce: **Role kináz rodiny Src v imunologických synapsích antigen prezentujících buněk**

Cílem hodnocené práce bylo objasnit doposud velmi málo prozkoumanou roli kináz rodiny Src v signálních drahách antigen prezentujících buněk v oblasti imunologické synapse. K tomuto účelu autorka připravila konstrukty, které kotví na plasmatickou membránu antigen prezentujících buněk kinázu Csk, která zde inhibuje kinázy rodiny Src.

Práce je přehledně členěna na předepsané části. Po podrobném a úplném seznamu zkratk následuje literární přehled. V literárním přehledu autorka čtenáře úvodem seznamuje s procesem prezentace antigenu, s jednotlivými typy antigen prezentujících buněk a imunologickou synapsí. Nejrozsáhlejší kapitola úvodu potom popisuje signalizaci antigen prezentujících buněk v oblasti imunologické synapse, včetně dosavadních poznatků o roli kináz rodiny Src v této signalizaci. Přehled je čtivý a je z něj patrné, že se autorka seznámila velmi důkladně s relevantní literaturou. V kapitole Materiál a metody jsou na 16 stranách stručně ale přehledně a pečlivě popsány používané metody způsobem, umožňujícím použít uvedenou diplomovou práci jako laboratorní manuál. Kapitola Výsledky začíná popisem přípravy důležitých konstruktů a exprese těchto konstruktů v buněčných liniích. Následuje funkční testování konstruktů v buněčné linii K46. Poslední část výsledků popisuje expresi konstruktů v dendritických buňkách. Diskuse výsledků je velmi zdařilá, svědčí o schopnosti autorky kriticky hodnotit nejen výsledky svých experimentů, ale i současné poznatky ve své oblasti výzkumu. Závěr přehledně shrnuje výsledky práce. Autorka ukázala, že exprese konstruktů, které přivádějí na plasmatickou membránu kinázu Csk v B buněčné linii K46 inhibuje aktivaci kináz rodiny Src, mobilizaci vápníku a aktivaci těchto buněk. Dále se autorce podařilo prokázat, že exprese těchto konstruktů v hematopoetických progenitorech blokuje jejich diferenciaci na buňky dendritické, což následně vede ke snížení účinnosti antigenní prezentace takto získanými buňkami.

Ve své práci autorka využila velké množství metod molekulární a buněčné imunologie. Prokázala schopnost provádět komplexní experimenty, kriticky je hodnotit a výsledky uvádět do širších souvislostí. **Práce podle mě jednoznačně splňuje a v mnohém výrazně převyšuje požadavky na diplomovou práci a navrhuji její přijetí.**

K práci mám následující připomínky a otázky:

Práci považuji za vynikající a mám jen drobnou formální připomínku:
Některé kapitoly Výsledků by si zasloužily delší obecnější úvod, aby se čtenář mohl rovnou dozvědět, proč se příslušné experimenty prováděly, proč právě v uvedených liniích ap.

Napadá Vás nějaký způsob, jak by kinázově-inaktivní Csk mohla inhibovat kinázy rodiny Src?

Jakým způsobem by podle Vás mohl konstitutivně aktivní Csk+ konstrukt snižovat fosforylaci aktivačního tyrozínu bez výrazného zvýšení fosforylace tyrozínu v C-koncové doméně?

Máte nějakou hypotézu ohledně malého vlivu CD37-/+ konstruktů na expresi CD69?

Podpis oponenta: Jan Brábek

