

Oponentský posudek

Disertační práce:

Identifikace nových faktorů virulence intracelulárního patogena *Francisella tularensis*

předkládá Mgr. Věra Daňková

školící pracoviště:

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové,

Katedra biochemických věd

V disertační práci předkladatelka shrnuje výsledky doktorského studia, které realizovala na Ústavu molekulární patologie, FVZ ÚO Brno. Tématicky vychází z dlouhodobého zaměření Ústavu vedeného prof. Dr. Jiřím Stulíkem, kterým jsou molekulárně biologické a imunologické aspekty infekce *F.tularensis*. Na základě předchozích originálních nálezů se Mgr. Daňková věnovala studiu úlohy tetra-ricopeptide repeat-like proteinů (TPR-like) v patogenezi infekce F.t..

Práce má standardní členění. Je sepsána velmi pečlivě a přehledně. Přináší stručný, ale ucelený pohled na velmi komplikované okolnosti patogeneze franciselové infekce. V úvodu je v řadě podkapitol pojednáno o nejvýznamnějších oblastech, které jsou spojeny s množением F.t. uvnitř hostitelské buňky. Podrobněji jsou uvedeny informace, které se týkají stresových proteinů, zvláště těch, které mají ve své struktuře TPR-like sekvence.

Cíle práce jsou jasně formulované. V experimentální části je podán dostatečný přehled velmi rozmanitých a zároveň mimořádně náročných technik, které zahrnují molekulárně genetické postupy, in vitro experimenty na buněčných liniích, proteomické analýzy a analýzy na myším modelu. Ve výsledkové části jsou podány velmi přehledně a srozumitelně výsledky studia. Diskuse je originální a velmi silně orientovaná na řešenou problematiku. Literatura je recentní a může se opřít o mnoho již publikovaných prací, které vznikly na ústavu vedeném prof. Stulíkem. Přílohou jsou dvě práce publikované v časopise *Infection and Immunity*.

Není zapotřebí podrobněji komentovat dosažené výsledky, protože byly efektivně publikovány. Pouze stručně konstatuji, že byly identifikovány tři geny s predikovanou TPR-like doménou. Byly připraveny mutantní kmeny, z nichž FTS_1680 byl prokazatelně spojen s virulencí bakterie. Další experimenty byly realizovány s tímto kmenem. FTS_1680 byl identifikován proteomicky jako membránově asociovaný protein s funkcí adaptace na teplotní stres. Mutantní kmen měl sníženou schopnost proliferovat v in vivo systému. Nepůsobil v těchto experimentech letálně. Tento mutant si zachoval plnou schopnost vyvolat protekci

proti plně virulentnímu kmeni F.t.. Imunoproteomickým přístupem byl určen profil bakteriálních povrchových proteinů po imunizaci a po infekci virulentním kmenem. Tímto postupem byly identifikovány nové imunoreaktivní antigeny, které by mohly posloužit pro tvorbu podjednotkové vakcíny. Dále byly přineseny původní nové poznatky o patogenezi F.t..

Do rozpravy navrhuji, aby se uchazečka vyjádřila o úloze interferonů I. třídy v patogenezi infekce F.t.. V práci dosáhla originálních výsledků v ohledu interferonu II. třídy. Prosím o kritické porovnání.

Na str. 18, 2.řádek je uvedeno „jedná se o minimálně konzervované oblasti ...“ jak mám rozumět tvrzení „minimálně“.

Závěr

Disertační práce jako celek představuje původní příspěvek k poznání patogeneze infekce *Francisella tularensis*. Obsahuje i nálezy s aplikačním potenciálem pro konstrukci podjednotkové vakcíny.

Práci hodnotím jako vynikající. Doporučuji ji přijmout jako součást řízení k obhajobě a udělení doktorského titulu PhD..

V Hradci Králové 29.10.2014

Prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.

přednosta

Ústav klinické imunologie a alergologie

LF UK a FN Hradec Králové

jan.krejsek@fnhk.cz

Univerzita Karlova v Praze
Lékařská fakulta v Hradci Králové
Ústav klinické imunologie a alergologie