

Posudek školitele na diplomovou práci

Jméno školitele: Mgr. Miroslav Kolařík, PhD.

Autor diplomové práce: Bc. Natálie Galanová

Název práce: Vliv mikrobiomu na patogenezí střevních onemocnění

Natálii Galanovou školím od října 2014, kdy začala vypracovávat svojí bakalářskou práci, která tematicky předcházela práci diplomové. Práce byla zadána z popudu MUDr. Miloslava Kverky z Laboratoře buněčné a molekulární imunologie na MBÚ AV ČR, který byl zároveň jejím konzultantem a velkou oporou. Na rozdíl o studia bakterií, zájem o střevní mykobiom je velmi recentní a většina zásadních prací byla publikována po roce 2012. V současné době zažíváme doslova boom studia mykobiomu lidského střeva, tedy intestinomu. V souladu se současnými trendy převládají práce používající nepřímé metody studia houbových společenstev. O poznání méně kvalitních studií používá kultivační postupy a systematická metodologická studie zatím chybí.

Cíle práce byly z části dány potřebami širší studie, která probíhá na MBÚ AV ČR a IKEM. Hlavním cílem bylo studovat vztah mykobiomu a výskytu dvou typů střevních onemocnění. K tomu byl zvolen vzorek 130 pacientů. Tato část zahrnovala čistě jen analýzu environmentální DNA. Testy biologických aktivit hlavních hub vyžadovali získání živých kultur hub. Data z kultur byla také nutná pro kvalitní validaci NGS dat a dourčení kritických skupin hub jako je rod *Aspergillus* a *Penicillium*. Proto bylo na vybraném vzorku lidí studováno spektrum hub pomocí přímé kultivace. Natáliina literární excerpce ukázala, že téměř každá studie používá jiné metody skladování vzorků a kultivace. Vliv těchto proměnných na spektrum hub byl proto studován v samostatném experimentu. Výsledky této čistě mykologické části jsou tak velmi originální a použití obou přístupů je v literatuře výjimečné.

Studentka byla vyškolená v použití velkého spektra metod moderní mikrobiologie a mykologie a imunologii. Práce svou mezioborovostí překročila hranice mezi popisnou a experimentální vědou, mezi základním výzkumem a medicínou. Každá z použitých metod vyžadovala náročnou optimalizaci a lze říci, že každému vydařenému experimentu předcházelo dlouhou hledání. Jen namátkově lze zmínit problémy s nespecificitou NGS primerů, potížemi s izolací čisté DNA z fekálních vzorků, přípravou homogenních vzorků pro kultivační stanovení množství CFU, práci v anaerobních podmínkách, morfotypizací kvasinek rodu *Candida* a *Saccharomyces*. Většinu těchto kroků zaváděla v laboratoři poprvé a její

kroky zahrnovali vše od navržení pokusu, pořízení chemikálií a vybavení a provedení experimentu.

Studentka prokázala velkou schopnost systematické práce a disciplíny. Musím ocenit ochotu a zápal studentky s jakým pracovala na tématu, jehož výsledky nebyly předem zaručeny, a o němž jsem jako školitel a konzultanti měli jen teoretické představy. Tyto představy Natálie velmi samostatně zrealizovala, předčila a vylepšila mnoha vlastními nápady. Nashromážděná data byla metodicky vhodně analyzována a prezentována. Výsledky analýz jsou diskutovány v kontextu současné literatury. Využité literární zdroje jsou dostatečné a citované správně. Natálie stihla tuto práci vypracovat v nejkratším možném termínu, což se projevilo na chvatu při finalizaci. To jistě negativně poznamenalo kvalitu textu, který je místy složitě formulován v rozporu se zásadami vědeckého textu. Je patrné, že zejména poslední části diskuze, které vznikali těsně před odevzdáním, potřebují řadu úprav. Práce tak působí značně heterogenně. Pro svou práci autorka získala finanční podporu od Grantové agentury UK. Výsledky práce dají zcela jistě vzniknout kvalitním publikacím. I přes formální nedostatky musím ocenit bezpříkladné pracovní nasazení (Natálie trávila v laboratoři skutečně všechen volný čas) a proto práci doporučuji k obhajobě a navrhuji ji hodnotit známkou výborně.

V Praze 1.VI.2017