

## Posudek oponenta na diplomovou práci

X oponentský posudek

Jméno posuzovatele:  
RNDr. Šárka Němečková DrSc.

Datum: 22.5.2017

Autor: Bc. Karolína Pokorná

Název práce:

Interakce myšího polyomaviru s Toll-like receptory

### Cíle práce

- A. Charakterizovat roli signalizace z TLR 4 nebo 9 během infekce myších embryonálních fibroblastů polyomavirem MPyV.
- B. Stanovit význam MAP kinázové signalizační dráhy pro infekci MPyV s využitím inhibitorů kinázy p38 nebo JNK.

### Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran): 108

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO

Je uveden seznam zkratek? ANO

### Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO

Je napsán srozumitelně? ANO

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO

### Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito?

Použité metody lze zařadit do 14 základních metodických okruhů.

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

### Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO-

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO

### Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO

### Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ANO

### Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Práce neobsahuje žádné zásadní chyby. Grafy a obrázky jsou výstižně a dostatečně popsány, grafy adekvátně dokumentují výsledky, jazyková úroveň je vynikající.

**Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

Zpracování DP je velmi pečlivé. První část literárního úvodu je věnována myšimú polyomaviru a jeho životnímu cyklu. Další část je zaměřena na receptory vrozené imunity, TLR4 a 9 a jejich významu pro virovou infekci. Následuje část zabývající se rolí MAP kináz v životním cyklu polyomavirů. Vše je podáno jasně, přehledně s ohledem na vzájemné souvislosti všech částí. Také experimentální část DP svědčí o tom, že se autorka propracovala k odpovědi na položené otázky dlouhodobou a intenzivní činností v laboratoři. Pro splnění cílů připravila nezbytné koncentráty MPyV a různých typů VLP a naučila se používat potřebné analytické testy. Provedla řadu náročných pokusů, jejichž výsledky jsou ukázány ve 13 grafech. Zjistila, že na buňkách MEF lze velmi dobře studovat nespecifickou odpověď proti infekci MPyV, zavedla celou řadu metod vhodných pro tyto studie a našla slibné směry pro navazující experimenty. Vrcholem DP je velmi poutavá a kritická desetistránková kapitola „Diskuze“, která je napsána s ohledem na již dříve známé výsledky. Práci považuji za velmi kvalitní.

**Otázky a připomínky oponenta:**

## Otázky

1. Primární kultury MEF mohou obsahovat fibroblastoidní buňky více různých typů, které se mohou lišit expresí např. CD14 i dalších molekul významných pro odpověď přes TLR (Singhal PK et al., 2016). Zjišťovali jste, jaký fenotyp mají Vámi používané MEF? Jaký význam pro Vaše pokusy by tato heterogenita kultur mohla mít?
2. Úlohu TLR4 při stimulaci produkce IL6 po infekci MPyV jste prokázali pomocí inhibitorů CLI-095 a LPS-RS. Mohla byste navrhnout ještě nějaký jiný postup?
3. Je možné v kulturách MEF aktivovat kromě zánětlivé odpovědi také produkci interferonů, jako např. v kuřecích embryonálních fibroblastech?
4. Proč jste pro studium významu MAP kináz při replikaci viru zvolili kultury primárních buněk a ne buněčnou linii?
5. Oceňuji, že jste v mnoha případech uvedla výsledky z více pokusů. Často se hodnoty významně lišily např. v pokusech na obr. 35 a 36 A a B. Čím si to vysvětlujete?

## Připomínky

V pokusech s oběma ODN by bylo vhodné do negativních kontrol dávat kontrolní ODN (CG vyměněný za GC).

## Formální nedostatky:

Versen není chemikálie, jako vlastní jméno se píše s velkým V.

ODN obsahují fosforothioát a ne fosforothiotát.

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

X výborně    velmi dobře    dobře    nevyhověl(a)

Podpis oponenta: