POSUDEK NA DIZERTAČNÍ PRÁCI Mgr. Martiny Švédové

Předložená dizertační práce je zaměřena na velice aktuální biomedicínské téma interakce mezi patogenem a hostitelem na modelu *Bordetella pertussis.* Školící laboratoř se dlouhodobě zaměřuje na pochopení molekulárních detailů molekulárních strategií tohoto významného lidského patogenu; a to jak na ryze molekulární úrovni (strukturní a funkční detaily virulenčních faktorů), tak na interakci s buňkami (jak studovaných proteinů, tak modifikovaných bakteriálních kmenů) i s celými organismy (myší model pro studiu imunizačních protokolů a validace modifikovaných virulenčních faktorů, s příklonem k více relevantnímu paviánímu modelu). Martina Švédová mohla během svého téměř desetiletého působení sledovat a svou experimentální činností přispět k posunu laboratoře vedené svým školitelem prof. Petrem Šebem od významně redukcionistického přístupu k mnohem experimentálně hůře uchopitelným, avšak pro pochopení skutečných mechanismů vysoce relevantním *in vivo* přístupům. Doménou Martiny Švédové je studium interakce jednoho z klíčových virulenčních faktorů *Bordetella pertusis,* adenylát cyklázového toxinu, s dendritickými buňkami, které jsou klíčovou buněčnou populací pro iniciaci a regulaci imunitní odpovědi, orchestrující přirozenou a adaptivní imunitu. Tomuto tématu je věnována autorčina stěžejní prvoautorská práce, navíc je ostatně vtěleno do názvu samotné dizertační práce, která přichází se zásadními a prioritními pozorováním o molekulárním mechanismu příslušné imunomodulace.

Martina Švédová se formátu své práce zhostila velice dobře. Jednak ji sepsala velice dobrou angličtinou s minimem formálních nepřesností (snad jen na stránce 53 není latinský název kurzivou, některé obrázky mohly mít lepší rozlišení, popř. čitelnější popisky; evidentní je enormní snaha o formální dokonalost), kdy vhodně balancovala v literárním přehledu mezi nezbytnými obecnostmi a nutností detailně vysvětlit příslušné molekulární mechanismy. Úvodní část velice kvalitně zpracovaným a čtivým způsobem na cca 50 stranách představuje recentní publikované informace tematizované imunitou dýchacích cest, dendritickými buňkami, dále černým kašlem a *B. pertussis* jako původcem znovu se objevující významné lidské patologie. Zvláštní důraz je v práci logicky věnován adenylát-cyklázovému toxinu *B. pertussis* (CyaA), jako klíčovému molekulárnímu nástroji (zvláště s důrazem na jeho interakci s buňkami imunitního systému a možnou vakcinační aplikaci) využitému autorkou pro svůj výzkum. Použité literární zdroje jsou reprezentativním a v řadě ohledů vyčerpávajícím přehledem relevantní literatury

Je evidentní, že Martina Švédová úspěšně využívá mimořádného intelektuálního a metodického zázemí školitelské laboratoře, kde se celá řada jejích kolegů věnuje hledání molekulárních mechanismů vysvětlujících ovládnutí buněčné fyziologie cílových buněk prostřednictvím CyaA. Je však zřejmé, že předložená práce je jejím originálním autorským dílem, což myslím mohu poměrně dobře zhodnotit jako jeden z „dvorních" oponentů zde vznikajících bakalářských, diplomových a dizertačních prací. V práci jednoznačně definovaný podíl na jednotlivých publikacích jasně ukazuje kvalitu vědecké výchovy, kterou Martina Švédová absolvovala ve školitelské laboratoři. Použitá metodická šíře a hluboký vhled do studované problematiky přesvědčivě dokumentované v diskusi na konci práce jsou jednoznačným argumentem pro udělení titulu Ph.D. za jménem.

Martina Švédová ve své práci uvádí jednu prvoautorskou a dalších pět spoluautorských prací (z toho jednoho přehledového článku) publikovaných v kvalitních biomedicínských časopisech, vyzdvihnout je třeba zvláště tu prvoautorskou publikovanou v prestižním oborovém časopise Immunology and Cell Biology (nature.com). Kvalita publikované práce spolu s kvalitou příslušných časopisů i samotnou kvalitou předloženého spisu jsou zcela dostatečné pro mé vysoce kladné hodnocení předložené kvalifikační práce.

Na závěr bych měl jen několik zvědavých dotazů obecnější povahy:

1. *B. pertusis lidský je obligátní lidský patogen – jeho interakce s imunitním systémem je však testována na myším modelu. Mohla byste komentovat možná interpretační úskalí pro humánní patogenesi/interakci s imunitním systémem?*
2. *Ve své práci zmiňujete důležitou interakci B. pertussis s řasinkovým epitelem. U kuřáků, popř. při nedostatku vitaminu A, dochází k dramatické transdiferenciaci dýchacího epitelu ve vícevrstevnou dlaždicovou formu, v podstatě postrádající řasinky jako interakční platformu pro kolonizaci. Existují experimentální data o tom, jak probíhá černý kašel u jedinců s anomálním histologickým uspořádáním dýchacího epitelu, popř. kvality sekretu (cystická fibróza)?*
3. *Jako hlavní molekulární nástroj využíváte různé varianty CyaA toxinu, který se jeví jako klíčový pro patogení působení B. pertussis. Tato bakterie však produkuje poměrně široké spektrum různých virulenčních faktorů, o nichž se dá předpokládat, že mohou fungovat synergním způsobem v reálném patogenním kontextu. Uvažujete o experimentech, v nichž by byly využity kombinace virulenčních faktorů pro pochopení komplexního reprogramování dendritických buněk, popř. zda existují data z obdobně designovaných experimentů?*
4. *Osobně mi jako velice překvapivý přišla informace o fylogenetické konzervovanosti modulace aktivity p38 a JNK póry vytvářejícími toxiny. To, co pozorujete u myších dendritických buněk probíhá zřejmě i u příslušných homologů u C. elegans! Mohla byste prosím komentovat, proč právě výše zmíněné MAP kinázy mohou být takto univerzálně ovlivněny působením toxinů vytvářejících póry?*

Na závěr bych chtěl konstatovat, že předložená dizertační práce Mgr. Martiny Švédové je velice kvalitní a prokazuje nejen autorčinu vědeckou erudici, ale i schopnost srozumitelným způsobem formulovat složitá vědecká fakta a hypotézy. Dizertační práce **„Mechanism of action of adenylate cyclase toxin on immune function on dendritic cells“** splňuje požadavky kladené na Univerzitě Karlově, Přírodovědecké fakultě na kvalifikační práce doktorského studia a jednoznačně ji doporučuji k obhajobě.

v Praze 21.5.2017 *prof. RNDr. Jan Černý, Ph.D.*