

Posudek

na doktorskou disertační práci Mgr. Jany Kamanové „*Bordetella* adenylate cyclase: Molecular mechanism of action and its use for antigen delivery“

Práce Jany Kamanové, vypracovaná pod vedením renomovaného vědeckého pracovníka Ing. Petera Šeba z Mikrobiologického ústavu AVČR, v.v.i. naplňuje představu oponenta o kvalitní moderně pojaté doktorské disertační práci.

(1) Práce se zabývá aktuální topikou buněčné biologie - objasňování molekulárního mechanismu působení adenylát-cyklázového toxinu z *Bordetella pertusis* na makrofágy a další buňky. Významnou extenzí poznatků o studovaném toxinu je pak jeho využití pro nové způsoby imunizace.

(2) Práce využívá moderní metody výzkumu. Mezi ně patří příprava mutantních forem toxinu, izolace rekombinantních proteinů, celá řada sofistikovaných metod pro určení molekulárního působení toxinů (stanovení koncentrace intracelulárního cAMP, měření fagocytózy, mikropinocytózy a řada dalších), transfekce buněk, řada imunochemických metod a další.

(3) Doktorská práce je souborem 4 publikovaných sdělení a 2 manuskriptů připravených pro tisk.

(4) Práce má odpovídající strukturu: má kvalitně zpracovanou úvodní část (26 stran), která obsahuje vhodně volené obrázky (13) a jednu tabulku. Dále následují cíle práce, výsledky (ve formě publikací již vyšlých nebo manuskriptů), diskuse (11 str.), závěry (3 str.) a literární odkazy (203 referencí).

(5) Práce je sepsaná v kvalitní angličtině; v práci je jen omezené množství překlepů a diskrepancí (například na str. 7 je zkratka RTX vysvětlena jako Repeat-in-ToXin, kdežto na str. 47 je tato zkratka použita pro Repeat in ToXin). Ve výsledkové části oceňují, že vlastním publikacím předchází krátký souhrn, který přitom není kopií abstraktu práce. Na tomto místě bych očekával i vyjádření autorky o svém podílu na publikaci (viz níže).

(6) Ačkoliv výsledková část je rozdělena do dvou oddílů, práce představuje kompaktní celek.

(7) Kompaktnosti práce přispívá rejstřík, kontinuální číslování stran (celkem 141), úvodní souhrn a seznam používaných zkratk.

Klíčovým výsledkem doktorské disertační práce je publikace č. 3, publikovaná v J. Immunology, která shrnuje získané výsledky J. Kamanové a spolupracovníků při studiu působení adenyl cyklázového toxinu na fagocytární aktivitu. Jedná se o velmi kvalitní a rozsáhlou práci (11 str.), která ve finálním obrázku (Fig. 9) zachycuje představu autorského kolektivu o molekulárním působení studovaného toxinu na fagocytózu a další membránové děje. Na této práci je J. Kamanová prvním z 9 autorů. Podíl autora na publikacích s ohledem na jejich kvalitu je možno zhodnotit pomocí scientometrického údaje KIF (kumulativní impakt faktor autora), který bere do úvahy i to, zda se jedná o prvního nebo korespondujícího autora. Hodnota KIF J. Kamanové pro práce, které tvoří základ disertace je 3,317 (viz

příloha). Tato hodnota vysoce přesahuje nároky náročných oborových rad na publikační aktivitu uchazečů.

Připomínky a otázky do diskuse

Všechny práce, které jsou součástí této doktorské práce, zahrnují řadu dalších autorů.

Na jedné práci je J. Kamanová prvním autorem. Na dvou ze čtyř již publikovaných prací je korespondečním autorem Peter Šebo a na dalších dvou jsou korespondující autoři z jiných pracovišť. V práci postrádám vymezení podílu autorky na jednotlivých pracech.

Otázka 1. V rámci obhajoby prosím specifikovat podíl autorky na jednotlivých pracech.

Na str. 4 se uvádí, že produkce IgE v horních dýchacích cestách má zřejmý význam jak v obraně proti patogenům, tak i v patogenezi alergických nemocí.

Otázka 2. Uveďte prosím jak IgE plní tuto roli (s akcentem na úlohu žírných buněk v obraně proti bakteriálním infekcím).

Na str. 72 se uvádí, že CyaA indukované zvýšení hladiny cAMP vede k inaktivaci RhoA signální dráhy a k inhibici C3-zprostředkované fagocytózy.

Otázka 3. Můžete na molekulární úrovni vysvětlit jak inaktivace RhoA vede k inhibici fagocytózy (sled molekulárních událostí, jak Rho se podílí na defosforylaci cofilinu....).

Na str. 78 je uvedeno, že RPMI medium, které bylo použito pro kultivaci dendritických buněk bylo nahrazeno DMEM mediem. Jako důvod této procedury bylo uvedeno, že se tímto zabrání nekontrolovatelné chelataci kalciových iontů fosfátovými ionty, které jsou v RPMI. DMEM však také obsahuje fosfátové ionty.

Otázka 4. Nestačilo by do RPMI media přidat definované množství CaCl_2 ?

Výše uvedené připomínky a dotazy žádným způsobem neovlivňují kvalitu předkládané práce.

Závěr: Předkládaná práce splňuje veškeré požadavky kladené na doktorské disertační práce a doporučuji proto její přijetí k obhajobě.

Autorce a školiteli gratuluji ke kvalitní práci!

V Praze 22. 11. 2009

RNDr. Petr Dráber, DrSc.
Tel. 241 062 468,
e-mail:draberpe@img.cas.cz

Příloha

Výpočet kumulativního IF (KIF) prací disertace J. Kamanové:

Pořadové číslo časopisu odpovídá pořadovému číslu publikace v disertaci)

Metodika výpočtu je uvedena ve zvláštní příloze Akademického Bulletinu, 2: 1-2, 1998 (<http://abicko.avcr.cz/cs/archiv/1998/2/obsah/scientometrie-v-praxi.html>; navíc, první a korespondující autor se započítává 2x

Do výpočtu byly zavzaty pouze již publikované práce

.

1. **Curr. Opin Microbiology.**, IF = **7,483**, počet autorů 3

AIF = 1,497

3. **J. Immunol.**, IF = 6.000, počet autorů 9; J. Kamanová **1. autor**

AIF = 1,091

5. **Infect. Immun.**, IF = 3,987, počet autorů 8

AIF = 0,399

6. **Vaccine**, IF = 3,298, počet autorů 8

AIF = 0,330

KIF: 3,317
