

Oponentský posudek na dizertační práci

Mgr. Jany Kamanové

Bordetella Adenylate Cyclase: Molecular Mechanisms of Action and Its Use for Antigen Delivery

Dizertační práce Jany Kamanové je věnována velice atraktivnímu tématu na pomezí základního imunologického výzkumu a klinických aplikací. Oblast vývoje nových imunizačních strategií a modulace specifické imunitní odpovědi je velice živá a aktuální. Využití unikátních vlastností adenylát-cyklázy nabízí zcela ojedinělou možnost kombinovat prezentaci antigenů prostřednictvím MHC glykoproteinů I. i II. třídy, pro úspěšnou aplikaci ACT je však nezbytné dokonale prozkoumat mechanismy jeho působení na cílové buňky – a právě tím je tematizovaná dizertační práce Jany Kamanové.

Ta je klasicky členěna na dvě části - skvěle sepsanou teoretickou pasáž uvádějící do problematiky a 6 publikací, z nichž v jednom případě je Jana Kamanová prvním autorem, 4 dalších autorem druhým (4 publikace již vyšly, 2 jsou kompletně sepsány a připraveny k publikování). Práce jsou tematicky členěny do dvou celků – jeden je věnován molekulárním mechanismům aktivity ACT, druhý použití ACT jako imunizačního agens. Unikátním rysem tohoto souboru publikací je fakt, že obsahuje nejen práce časopisů experimentální, ale i přehledný článek publikovaný v jednom z nejkvalitnějších existujících přehledných časopisů – Curr Opin Microbiol (IF 7,483). Dále je třeba zdůraznit výbornou angličtinu autorky, stručné a výstižné úvody k jednotlivým publikacím, absenci formálních nedostatků, skvělou grafickou stránku práce, dotaženou u obrazové dokumentace k dokonalosti. Práce obsahuje diskusi prokazující autorčinu dokonalou obeznámenost s relevantní literaturou (v práci je citováno téměř 200 literárních pramenů), schopnost kriticky myslet v širokých souvislostech, v neposlední řadě jasně vyjádřit logické vývody.

Podrobněji bych se chtěl věnovat „vlajkové lodi“ předloženého souboru publikací – práci publikované v prestižním časopise Journal of Immunology: „***Adenylate Cyclase Toxin Subverts Phagocyte Function by RhoA inhibition and Unproductive ruffling***“. Jedná se o unikátní počín v kontextu české mikrobiologie a imunologie, kdy se autorům daří definovat nový molekulární mechanismus vlivu cyklázového toxinu na fyziologii antigen-prezentujících buněk pomocí nejmodernějších molekulárně a buněčně biologických metodik. Je nepochybné, že pro vznik této práce je příspěvek Jany Kamanové zásadní, a to jak po stránce intelektuální (plánování experimentů, jejich vyhodnocování, sepsování práce) tak experimentální. Pečlivým testováním aktivity aktin-remodelujících buněčných proteinů byl objeven nový mechanismus aktivity vybraných antigen-prezentujících buněčných typů – neproduktivní membránový „ruffling“ s jasným vztahem k blokování makropinocytózy a fagocytózy, navíc relevantní pro *in vivo* situaci při infekci *B. pertusis*.

Veden vlastní zvědavostí, nijak nesnižujíc kvalitu publikace, bych se chtěl zeptat:

1. V práci je konstatováno, že koncentrace CyaA použité pro experimenty *in vitro* jsou relevantní *in vivo* – mohla by autorka toto konstatování rozvést?

2. Jako jednu z možností pro pozdější fagocytickou impotenci testovaných buněk autoři uvádějí depleci ATP prostřednictvím CyaA. Není možné, že by při použitých koncentracích CyaA snížená koncentrace ATP hrála důležitou roli i při blokování makropinocytózy?

3. V článku je ukázána reverzibilita membránových „ruffles“ – a to neproporcionálně použité koncentraci toxinu – při použití vyšších koncentrací je návrat k „normálu“ rychlejší, než u koncentrace nižší. Jaká je viabilita buněk po ovlivnění koncentracemi CyaA 10ng/ml a 100ng/ml? Nejedná se v případě 100ng/ml o stav dramatického poškození buněčné signalizace a fyziologie spojený s neschopností regulovaně polymerovat aktinový cytoskelet?

Jak již bylo zmíněno, předložená disertační práce sestává z šesti článků, z nichž 4 byly již publikovány v kvalitních biomedicínských časopisech - ve všech případech prošly pečlivým recenzním řízením a jsou dostatečným předpokladem pro udělení titulu PhD. Jana Kamanová měla to štěstí, že se během své vědecké přípravy seznámila s celou řadou technik a problematik – a to v jedné z našich nejlepších laboratoří pod vedením skvělého experta na řešenou problematiku – Ing. Petera Šeba. Zvolené téma je mimořádně důležité a inovativní, pohybuje se na hraně vědeckého poznání a má velký aplikační význam. Osobně mám s erudovaností Jany Kamanové velice dobrou zkušenost, při každém rozhovoru s ní mi bylo jasné, že každé své tvrzení má skvěle podložené pečlivě nastudovanou literaturou, k tomu přidává mimořádné experimentální nadání a dar kriticky a kreativně interpretovat experimentální data. Jsem si jist, že veškerá experimentální produkce Jany Kamanové byla mnohokrát opakována a kontrolována sofistikovanými přístupy, její zodpovědný přístup je pověstný nejen na jejím mateřském pracovišti.

Disertační práci Jany Kamanové doporučuji k obhajobě a vysoce kladnému hodnocení členy Oborové rady doktorského studia ve studijním programu Molekulární a buněčná biologie, genetik a virologie.

Osobně přeji autorce úspěšné pokračování skvěle nastartované vědecké kariéry.

V Praze 5.12.2009

RNDr. Jan Černý, PhD.
Katedra buněčné biologie
PřF UK v Praze