

Oponentský posudek na diplomovou práci Zuzany Kubínkové
„Mykobakteriální protein Hsp65 jako ligand pro leukocytární receptor CD69“

Diplomová práce Zuzany Kubínkové se zabývá analýzou interakce mykobakteriálního proteinu Hsp65 s leukocytárním receptorem CD69. Vzhledem k tomu, že proteiny tepelného šoku a speciálně mykobakteriální protein Hsp65 jsou dnes v centru zájmu pro své imunomodulační vlastnosti využívané k inhibici autoimunitních reakcí, jde o práci velice aktuální a záslužnou. Diplomová práce byla vypracována v laboratoři doc. RNDr. K. Bezoušky, CSc. a představuje spis o 56 stranách rozdělený podle běžných zvyklostí do jednotlivých kapitol. Úvod představuje velice dobře vypracovaný přehled literárních znalostí jak o proteinu CD69 tak o proteinech tepelného šoku a ukazuje, že autorka má dobré znalosti o základních mechanismech imunitního systému.

Cílem diplomové práce bylo charakterizovat vazbu Hsp65 a jeho peptidů na protein CD69 a zjistit, které aminokyseliny jsou důležité pro tuto vazbu. Druhým cílem práce bylo nalézt vhodný zdroj chaperoninu Hsp60 obsahující sekvenci LELTE, za účelem izolace většího množství tohoto chaperoninu pro další vazebné studie. V metodické části jsou jednotlivé techniky podrobně a pečlivě popsány a z kapitoly Výsledky vyplývá, že cíle diplomové práce byly splněny. Zvláště si cením těchto nálezů: 1) lidský homolog Hsp60 se neváže na receptory CD69, 2) byly definovány aminokyseliny, které jsou zodpovědné za vazbu CD69 a Hsp65, 3) bylo zjištěno, že sekvence LELTE se váže na protein CD69 se stejnou afinitou jako celý mykobakteriální Hsp65. Kapitola Diskuse ukazuje, že autorka je schopná konfrontovat výsledky vlastní práce se současným stavem znalostí.

K práci mám několik drobných výtek. V kapitole Materiál jsem postrádala bližší popis obou použitých proteinů, především jejich zdroje. V seznamu reagensů chybí bližší popis rekombinantního Hsp65 s odkazem na výrobce, v práci jsem vůbec nenašla bližší popis a zdroje peptidů (např. výrobce syntetických peptidů). V kapitole Metody je velice stručný popis o použití lidského a potkaního proteinu CD69 připraveného doc. Bezouškou bez bližšího popisu nebo literárního odkazu.

Při čtení diplomové práce mne napadly otázky do širší diskuse.

- 1) Zdá se, že Hsp65 aktivuje především T buňky regulačního typu. Zajímalo by mne, zda není vyloučeno, že aktivace těchto typů buněk je důsledkem nejen vazby přes CD69, ale také přes jiné receptorové molekuly např. TLR a co je eventuelně známo o molekulové podstatě vazby Hsp65 na tyto receptory přirozené imunity.
- 2) Je možné předpokládat, že pomocí podrobné analýzy vazebné reakce je možné identifikovat interakci, která by vedla k signalizaci a aktivaci určité funkce buňky? Myslíte si, že bude možné různými peptidy Hsp65 modulovat rozdílné typy imunitních reakcí?

Závěrem lze konstatovat, že Zuzana Kubínková svou diplomovou prací dokázala, že má předpoklady k vědecké práci. Osvojila si a zvládla široké spektrum metod, prokázala orientaci v odborné literatuře a její výsledky jsou cenným příspěvkem k objasnění interakce dvou biologicky velice důležitých proteinů. Doporučuji proto, aby diplomová práce byla hodnocena jako vynikající.

Praha 24. 5. 2006

Prof. MUDr. Helena Tlaskalová, DrSc.
Mikrobiologický ústav AV ČR
Václavská 1083
142 20 Praha 4