

## Oponentský posudek na disertační práci Mgr. J. Mackové

### *Vývoj terapeutické vakcíny proti nádorům vyvolaným lidským papilomavirem 16-vliv modifikace antigenu E7 na buněčnou odpověď*

Tématem posuzované práce byla příprava terapeutických vakcín proti nádorům na myším modelu pro nádory asociované s lidským papilomavirem (HPV) 16, který je etiologickým agens pro nádory děložního čípku, a využití různých metod při analýze imunitní odpovědi. Konkrétními cíly bylo (i) zavedení metodik kvantitativní i kvalitativní (Th1-Th2 polarizace) analýzy imunitní odpovědi a (ii) příprava rekombinantní vakcíny proti nádorům exprimujícím E6/E7 onkoproteiny založených na rekombinantním toxoidu CyaA a optimalizace vakcinačního protokolu. Proto byl v práci kladen velký důraz na metodickou stránku a nutno říci, že získané nové poznatky byly dobře experimentálně podloženy, což dokazuje i jejich publikace v kvalitních mezinárodních časopisech.

Řešená problematika je z důvodů velmi důležitá jak z hlediska základního imunologického výzkumu tak z hlediska zavádění a optimalizace nových metodik a přístupů v nádorové imunologii. Práce přináší nové poznatky a je jasně, přehledně a logicky napsána. Důležitou součástí jsou publikace vzniklé z této práce a uveřejněné v časopisech s IF. U dvou z nich je autorka prvním autorem, u pěti spoluautorem.

#### **Připomínky k jednotlivým částem práce:**

*Teoretická část.* V teoretické části je vymezen problém studie a podán logický, literární přehled studovaných problémů. Literární přehled je velmi podrobný, obsahuje více než 40 stran, na kterých jsou diskutována tři nejdůležitější témata vztahující se k tématu práce; problematika lidských papilomavirů a imunitní odpovědi proti virové infekci i HPV indukovaným nádorům, metodický přehled dostupných analýz imunitní odpovědi a problematice Teoretická část nepředstavuje pouze literární úvod k práci ale mohla by být i základem přehledného článku. Podrobněji by snad mohly být jen mechanismy integrace a regulace transkripce virových onkoproteinů E6 a E7.

*Experimentální část (metody) a výsledky.* Výsledková část je tvořena souborem publikací, ke kterým kterých je vždy připojen krátký souhrn či komentář, kde jsou podrobněji. V práci není samostatná část popisující metodiky. Myslím, že metodiky jsou plně popsány v publikacích, což je plně dostačující.

*Diskuse.* V diskusi je uveden i stručný souhrn výsledků, které jsou stručně ale dostatečně diskutovány Pro podrobnější diskusi je opět nutno je vyhledat v jednotlivých pracích. Autorka také v diskusi stručně zmiňuje, jak se podílela na publikovaných pracích. Vzhledem k tomu, že část práce byla zaměřena metodicky a byly zavedeny dvě metody analýzy imunitní odpovědi, z nichž jedna charakterizuje zastoupení specifických mohl být větší prostor srovnání výsledků získaných při různých experimentech a detailněji charakterizovat stupeň jejich korelace.

*Poznámky k formální stránce práce.* Práce byla velice dobře zpracována a je jasně a přehledně členěna. V práci je naprosté minimum překlepů a nepřesností, což je poměrně výjimečné. V názvu kapitoly 1.3 je adenylát cyklázový toxin Bordetelly místo Bordetelly pertusis. Z poděkování ani komentářů k jednotlivým publikacím ve výsledkové části není jasné, jaký byl podíl jednotlivých spolupracovníků. Podobně jako celá práce, i autoreferát je

velmi dobře napsán. Drobnou výhradu mám k tomu, že přípravě rekombinantních toxoidů CyaA s onkoproteinem E7 a analýze účinku experimentálních vakcín byl věnován ve výsledkové části pouze jeden odstavec, přestože se jedná o hlavní část práce. Zavádějící je i uvedení cílů práce, kde je uvedeno jako cíl srovnat účinnost vakcín proti HPV místo proti nádorům asociovaným s HPV.

#### **Dotazy k diskusi:**

- Účinný vakcinační protokol kombinuje DNA vakcinaci a buněčnou imunizaci. Hraje v tomto uspořádání roli nespecifické aktivace imunitní odpovědi motivy obsahující nemethylované CpG ostrovy ve DNA vektorech?
- Analyzovali jste podrobněji případné rozdíly mezi výsledky získané metodou ELISPOT a metodou tetramerového značení?
- 8Q peptid obsahuje i B epitop. Přestože protilátková odpověď nehraje pravděpodobně klíčovou roli v protinádorové imunitě, uvažovali jste její možné efekty v experimentech s tímto peptidem, např. indukci buněčné cytotoxicity závislé na protilátkách (ADCC)?
- Předložená práce je velmi relevantní z hlediska vývoje nových terapeutických protinádorových vakcín. Uvažujete či plánujete, že by vaše poznatky mohly být uplatněny při konstrukci konkrétních vakcín pro terapeutické použití?

Mgr. Jana Macková potvrdila, že je schopna samostatně vědecky pracovat, a získala nové vědecké poznatky, které publikovala v mezinárodních časopisech s IF, z toho dvě jako první autor. Proto doporučuji, aby práce byla přijata jako podklad pro udělení titulu PhD.

V Praze dne 15.3.2007

RNDr. Milan Reiniš, CSc.