



POSUDEK NA DIPLOMOVOU PRÁCI Bc. Miroslavy Gorelové

Předložená diplomová práce je zaměřena na téma interakce mezi imunitním systémem a mikrobiotou, konkrétně na imunitní odpověď dendritických buněk na jeden z probiotických kmenů *E. coli*. Tato jeho role je testována na primárních buňkách získaných z pupečnickové krve zdravých a alergických matek, jsou srovnávány populace myeloidních a plazmacytoidních dendritických buněk, včetně jejich kokultivace s naivními CD4⁺ buňkami. Byly použity metodiky separace a kultivace buněk, ELISA a průtoková cytometrie.

Formát diplomové práce je ve shodě s doporučeními, obsahuje obecný úvod do problematiky, pečlivě vytvořený seznam zkratk, popsané metodiky, část výsledkovou i shrnující diskusi. Součástí práce je extensivní výčet citací. Práce obsahuje občasné formální nedostatky typu překlepů či formulačních nepřesností, celkově je ale třeba konstatovat velkou pečlivost při zpracování práce. Vzhledem k tomu, že se jedná o opakovanou verzi diplomové práce mohu konstatovat, že mnou oponovaná práce prošla pečlivou redakční úpravou a je evidentní, že se autorka poučila z celé řady formálních i obsahových komentářů. Mohu konstatovat, že můj převládající je takový, že se autorka snažila maximálně možné míře přepracovat práci tak, aby po stránce formální i interpretační vyhovovala požadavkům kladeným na diplomové práce v oboru Imunologie na Katedře buněčné biologie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy.

K PRÁCI BYCH MĚL NÁSLEDUJÍCÍ DOTAZY A KOMENTÁŘE:

Abstrakt

1. Píšete, že k alergickému onemocnění dochází u geneticky disponovaných jedinců, u nichž dendritické buňky polarizují imunitní systém směrem Th2 imunitní odpovědi. Jedná se o jediný typ genetické dispozice alergiků?

Teoretický úvod

1. Na straně definujete mikrobiom jako množství virů a bakterií, co jiné typy organismů?
2. Na straně 25 definujete použitý kmen *E. coli* O83:K24:H31. Mohla byste uvést více podrobností? Co znamenají jednotlivé části kódového označení? Jaká je molekulární struktura antigenu K identifikovaný jako K24. Byl tento kmen celogenomově sekvenován? Pokud ano, jaká je jeho odlišnost od dalších standardně používaných kmenů?
3. Na straně 27 uvádíte obrázek zachycující diferenciaci multipotentní hematopoetické kmenové buňky. V kontextu vaší práce mi přijde ne zcela optimálně vybraný, v lymfoidní linii postrádám plazmacytoidní dendritické buňky, s nimiž dále pracujete.
4. 10⁵ není frekvence, ale množství (strana 28).
5. Na straně 32 je zmíněno, že rozvětvený tvar DC s dendrity zabezpečuje lepší pohyblivost, je tomu skutečně tak? Jak se na tom podílí zmíněný protein fascín?

Materiál a metody:

1. Čím se odlišuje PBS a „PBS pro IL-10“?
2. V práci je uvedeno, že přípravu bakteriální buněčné suspence byla provedena pracovníky laboratoře, u práce s buňkami pupečnickové krve tomu tak není, předpokládám, že se jednalo výlučně o vaši práci. Je tomu skutečně tak?

Výsledky:

1. Jak kouření, délka těhotenství a stravovací návyky ovlivňují reaktivitu CBMC. Na straně 59 uvádíte, že se soubory v tomto ohledu neodlišovaly, čísla uvádíte ale jen pro věk...
2. Ve srovnání s předchozími verzemi práce je zřejmé, že došlo k důsledné reevaluaci vyhodnocení experimentálních dat, které se zde kvantitativně i kvalitativně blíží předpokládaným hodnotám a působí důvěryhodně za předpokladu experimentálního omezení.
3. Mohla byste během prezentace představit imunomodulační aktivity kmene O83 v kontextu jiných kmenů *E. coli* z předchozích dat získaných v laboratoři. Jde mi o „kalibraci“ systému ve srovnání s neprobiotickými kmeny, o pochopení, co je pro použitý kmen specifické a unikátní.

Diskuse:

1. Jak se CD83 chová po stimulaci jinými kmeny *E. coli*?
2. U pDC jste nepozorovala žádné signifikantní změny ani u jednoho sledovaného znaku – bylo to pro vás překvapivé? Jaká byla vaše hypotéza?
3. Čím vaše výsledky mohou přispět k objasnění molekulárního účinku probiotického přípravku Colifant Newborn?
4. Oceňuji rozšíření a zkvalitnění diskuse oproti předcházejícím verzím a zvláště doplnění podkapitoly „Dalšie možnosti napredovania výskumu“, kde je provedena katarze a zamyšlení nad metodickými a interpretačními omezeními provedených experimentů

Přes metodická a interpretační omezení (zmíněná samotnou autorkou v diskusi práce) bych chtěl konstatovat, že předložená diplomová práce splňuje nároky kladené na diplomové práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy a doporučuji ji k obhajobě. Oceňuji úsilí, které bylo věnováno formální i obsahové stránce ve srovnání s předchozími verzemi, i pokoru, kterou autorka získala ke svým výsledkům. Jsem zvědav, jak se uchazečka o magisterský titul popasuje s dotazy, výsledné hodnocení se samozřejmě bude odvíjet od kvality obhajoby. V tuto chvíli doporučuji hodnocení velmi dobře.

v Praze 25.5.2018

prof. RNDr. Jan Černý, Ph.D.