

V Praze 30. ledna 2019

Posudek k diplomové práci Anety Ptáčnickové:

Bakteriální populace ve sliznicích myši domácí

Diplomová práce Anety Ptáčnickové se zabývá mikrobiotou na různých sliznicích myši z divoké populace *Mus musculus musculus*. Využívá sice již zavedených ale poměrně sofistikovaných a experimentálně i analyticky náročných metod NGS. Jak jsem z práce pochopil, tak autorka se aktivně účastnila celého procesu od odběru vzorků myši, kvantifikace pomocí qPCR, přípravy knihoven, (sekvenace celkem pochopitelně nikoliv) a zpracování výsledků pomocí celé řady netriviálních statistik. Množství odvedené práce a zvládnutých technik je skutečně velké a jednoznačně dostatečné pro diplomovou práci.

Práce má klasické členění, rozumnou velikost a je psána česky. Obsahuje jen malé množství překlepů a chyb (viz. níže) a jejich množství neruší. Obrazová dokumentace je dobrá, ale rozlišení některých obrázků (např. č. 6) je na hraně. Na práci postrádám krátký úvod, který by představil motivaci práce. Z dalšího textu je však motivace celkem jasná a totiž, podívat se na mikrobiotu divokých myši poddruhu *musculus* a srovnat ji s tou u laboratorních myši a podruhem *domesticus*. Kapitola zvaná „Úvod“, která je literárním přehledem, začíná popisem bakteriální buňky, jenž je možná zbytečně detailní a trochu naivní, takže se tam objevují zvláštní a někdy i nepravdivé informace.

„Jedinou membránovou organelu tak představuje pouze cytoplasmatická membrána.“

„Ribozom prokaryot se skládá z malé podjednotky obsahující proteiny, které jsou kódovány 16S rRNA a velké podjednotky obsahující proteiny kódovány 5S a 23S rRNA.“

Dále je však text mnohem zralejší a ukazuje, že autorka má v literatuře týkající jejího tématu přehled. Čtivost práce komplikují časté výčty bakteriálních druhů a skupin u různých hostitelů a sliznic. Číst takové pasáže je úmorné a domnívám se, že by to někdy šlo vyřešit tabulkami. To se týká i diskuse, kde autorka srovnává svá pozorování s literaturou.

Metodika je psána dostatečně podrobně, statistické postupy dost převyšují moji odbornost a nejsem je schopen posoudit do hloubky. Co se týče sekvenace, přehlednosti by napomohlo grafické schéma celé studie nebo alespoň přípravy knihoven.

Práce si jasně definuje čtyři cíle včetně pracovních hypotéz. Všechny cíle jsou v práci řešeny a zodpovězeny, tři hypotézy potvrzeny, jedna vyvrácena. Jen škoda, že závěr není organizován zrcadlově k cílům a neobsahuje v bodech jasné odpovědi na otázky v cílech definované.

K výsledkům a diskuzi již nemám dalších formálních připomínek, jen věcné dotazy, které shrnuji níže. Můj celkový dojem z diplomové práce je příznivý, práce splňuje požadavky kladené na diplomové práce, doporučuji ji k obhajobě a hodnotím jako výbornou.

Dotazy:

1. Většina zjištění, ke kterým práce dospěla, jsou docela očekávaná. To není výtka, buďme rádi, že svět běží tak, jak očekáváme. Nicméně by mě zajímalo, který výsledek Vás nejvíce překvapil.
2. Co je známo o složení mikrobioty povrchu kůže myši či obecně savců. U člověka takové studie jsou a jsou v práci i zmíněny. Nicméně, situace i savců s mnohem hustším ochlupením bude nejspíš odlišná. Ví se o tom něco?
3. Dotaz k obrázku 6. Variabilita množství bakterií v trusu mezi jedinci mi přijde opravdu vysoká. Myslíte, že to může mít skutečný základ nebo se v tomto případě metoda qPCR velmi plete?
4. Největší množství bakterií na vaginální sliznici je očekáváno v estru. Přesto u dvou samic z deseti (5 a 7) tomu tak rozhodně není. Domníváte se, že to lze svést na chybu v qPCR, odběru vzorku nebo v určení estru nebo je to skutečnost a tyto myši jsou natolik jiné?
5. Na straně 53 píšete, že: „...*Pseudomonas* (OTU_1745), který se ve vagině nacházel během proestru i metestru, avšak v estru nebyl dále přítomný.“ Přitom na obrázku 16 je *Pseudomonas* v estru zaznačený právě u samic 5 a 7. Zřejmě souvisí s mým předchozím dotazem. Jak si to vysvětlujete?
6. Můj poslední dotaz se týká bakterie *Rodentibacter*, která podle vašich výsledků tvoří hlavní osazenstvo vaginální sliznice v estru. Zajímalo by mě, co se ví o podmínkách na této sliznici v této fázi cyklu (např. pH) a dále o vlastnostech této bakterie. Lze mezi tím vystopovat nějakou funkční souvislost jako v případě laktobacilů, kteří svým metabolismem snižují pH vaginální sliznice u člověka? Proč dochází v estru

k opakovaným nárůstům právě této bakterie? Může být specificky „přehlížena“ imunitním systémem?

Seznam překlepů a drobných chyb:

Strana 1: „... útvary zvané plasmidy, které jsou stejně jako nukleoid nositeli genetické informace.

”

Strana 12: „C. mast,, místo *C. mastidis*.

Strana 15: „U krysy, které byly vyživovány roztokem dusičnanu sodného (NaNO_3) docházelo k signifikantnímu nárůstu... „ chybí čárka.

Strana 15: „... roztok dusitanů sodného (NaNO_2), výsledné hodnoty...“

Strana 16: *Pasterurella*

Strana 17: „kmen_ze kterého zkoumané myši a krysy pochází.“ Chybí čárka.

Strana 17: mikroboty

Strana 17: „Rozdíly v alfě a beta diverzitě...“

Strana 28: „... ve třech různých bakteriálních koncentracích: 10^9 , 10^8 , 10^7 .“ Toto nejsou koncentrace.

Strana 40: Camypylobacter

Strana 46: Camyplobacter