

Posudek oponenta na diplomovou práci

Autor práce: Bc. Karolina Knížková

Název práce: Studium maternálně-fetálního mikrochimerismu APC s využitím MHCII/EGFP myšního modelu a clearovacích histologických technik

Tato práce představuje nový model pro studium mikrochimerismu a soubor metodik, pomocí kterých je možné tento jev studovat. Pro naplnění cílů práce bylo nutné zvládnout průtokovou cytometrii a spektrum pokročilých mikroskopických metod včetně přípravy vzorků a tvorby vyhodnocovacího algoritmu.

K práci mám následující dotazy a náměty k diskusi:

- Z dostupné literatury je patrné, že významný je mikrochimerismus fetálně-maternální (přenos buněk plodu do matky). Proč nebyly hledány MHCII/EGFP ve wild-type matkách po křížení s MHCII/EGFP homozygotními otci?
- Jedním z cílů práce bylo nalézt MHCII/EGFP buňky ve střevech wild-type mláďat kojenech MHCII/EGFP matkami – Dívali jste se na MHCII/EGFP buňky v mateřském mléce?
- Byla zaznamenána vysoká míra autofluorescence po fixaci tkání ve formalínu, která byla silnější u déle fixovaných vzorků. Je ukázán obrázek po 24 hodinové a po týdenní fixaci. Vyzkoušela uchazečka i kratší dobu fixace než 24 hodin? Vyzkoušela uchazečka jiné metody fixace?
- Kapitola 2.1.: Uchazečka píše, že *...dendritické buňky jsou schopné rozpoznat velké množství PAMPs (molekulární vzory typické pro patogeny) v kontextu nebezpečí (DAMPs – molekulární vzory asociované s nebezpečím). PAMPs, jsou evolučně vysoce konzervované (LPS, peptidoglykany, flagelin, dsRNA apod.)...* Rád bych se zeptal, zda skutečně musí jít jen o kontext nebezpečí a zda je uchazečka obeznámena s pojmem MAMPs (microbe-associated molecular patterns).
- Kapitola 2.5.3.: MHCII/EGFP knock-in myši model je vytvořen na genetickém pozadí 129/Sv; H-2b. Je k dispozici i na C57BL/6 genetickém pozadí? Pokud ano, je nějaký důvod proč nebyly tyto myši využity ke křížení s wt C57BL/6 při vytvoření modelu?
- Kapitola 5.1.4.: Velikost PCR produktu pro wt má mít 500 bp. To ale nesedí podle hmotnostního markeru. Víme proč? Dále: obrázek 21 vypadá jako výřez a zvětšení obrázku 22, aniž by to bylo kdekoli uvedeno. Může to uchazečka vysvětlit?
- Obrázek 26: Co si uchazečka myslí o lokalizaci zeleného signálu (MHCII/EGFP) a o tom, které buňky exprimují MHCII ve střevu?

Závěr (celkové stručné zhodnocení):

Tato práce představuje nový model pro studium mikrochimerismu a soubor metodik (a také jejich úskalí), které je možné využít pro jeho studium.

Práci doporučuji k obhajobě: Doporučuji

V Novém Hrádku dne 3.7.2020

Podpis: