

Oponentský posudek

Disertační práce:

**Molecular mechanisms of the interaction of intracellular pathogen *Francisella tularensis*
and antigen presenting cells**

Předkládá:

Mgr. Anetta Härtlová

Univerzita Obrany Brno

Fakulta vojenského zdravotnictví Hradec Králové

Ústav molekulární patologie

Přednosta: prof. MUDr. Jiří Stulík, CSc.

Téma dizertační práce Mgr. Härtlové představuje jednu z komponent, která má ucelit mozaiku studia interakce *F. tularensis* a hostitele, kterou dlouhodobě sestavují vědečtí pracovníci Ústavu molekulární patologie FVZ UO v Hradci Králové. Mgr. Härtlová studuje interakci *Francisella tularensis* s hostitelskou buňkou na modelu myšší makrofágové linie J774.2 a makrofágů odvozených od buněk kostní dřeně experimentálních myší. Vedle komplexních analýz změn membránových molekul, které realizuje především průtokovou cytometrií, se petentka soustředí na význam molekulových raftů, které jsou podle současných konceptů klíčové pro signální procesy na úrovni buňky. Za použití nejvyspělejších analytických přístupů autorka prokázala, že *Francisella tularensis* je při svém vstupu do hostitelské buňky závislá na přítomnosti cholesterolu v membráně hostitelské buňky. Prioritně identifikovala několik složek imunologických raftů, které se zdají být relevantní pro interakci s hostitelskou buňkou. Autorka popsala molekulu označenou Sequestosome-1, která je zapojena do životního cyklu *Francisella tularensis* v hostitelské buňce. Byla schopna spojit funkci Sequestosome-1 a s procesem autofagie, který se zdá být klíčový v celém patogenetickém procesu infekce *Francisella tularensis*.

Za mimořádně důležité lze považovat prioritní pozorování, která extendují naše znalosti o úloze interferonu γ v aktivaci makrofágových elementů v průběhu infekce *Francisella tularensis*. Pomocí techniky „cell surface capturing“ sledovala rozsáhlé spektrum molekul. K mému překvapení pouze sedm ze sledovaných molekul byly regulovány interferonem γ . Změny exprese těchto molekul následně také prokázala průtokovou cytometrií.

Celá dizertační práce je vypracována po formální stránce mimořádně pečlivě a bezchybně. Je sepsána čtivou a korektní angličtinou. Její uspořádání je velmi logické a didaktické. I mimořádně složité metodické postupy a komplexní pohledy je autorka schopna předat v takové formě, že orientaci v dizertaci si osvojí i odborník, který není bezprostředně specializovaný v dané problematice. V dizertaci postrádám, snad jako jediné, oddělený seznam publikovaných prací vycházejících z tématu dizertace, ve kterých je Mgr. Härtlová autorkou nebo spoluautorkou. Uvítal bych rovněž explicitní sdělení o podpoře grantových agentur. Předpokládám však, že takový seznam bude součástí autoreferátu, který je pro obhajobu nezbytný.

K práci nemám žádné připomínky. Jak již bylo řečeno, čtení dizertace je velmi stimulující. Dovoluji si proto vznést do vědecké rozpravy při obhajobě dizertační práce následující otázky:

1. V literárním úvodu autorka uvádí, že mikroorganismus *P. aeruginosa* interaguje s molekulou CD95 a s CNTFR komplexem na buňkách nemocných s cystickou fibrózou. Tato interakce je uváděna jako nutná podmínka pro rozvoj infekce *P. aeruginosa*. Prosím o upřesnění, zda u nemocných s cystickou fibrózou je membránový transportní systém kódovaný CNTFR přítomen a je pouze funkčně defektní, či zda u takto geneticky postižených osob na membránách chybí.
2. Je uvedeno, že sestavení inflamasomu vede k tvorbě aktivních forem IL-1, IL-18 a IL-33. Prosím o informaci, zda IL-33 byl již v souvislosti s imunopatogenezou infekce *Francisella tularensis* studován. Je dizertantce známa jeho duální role jako cytokinu a transkripčního faktoru? Jaký je její osobní názor na tuto duální funkci IL-33 obecně.
3. Prosím o vysvětlující názor dizertantky jak zhodnotit fakt, že tak zásadní imunomodulační cytokin, jakým je interferon γ , ovlivňuje v modelu infekce makrofágů *Francisella tularensis* tak omezený počet genů s poměrně nesourodými biologickými účinky.

Závěr:

Předložená dizertační práce zřetelně prokázala schopnost Mgr. Anetty Härtlové samostatně hledat vědecká témata, formulovat vědecké otázky, vypracovat náročné metodické postupy k hledání odpovědi na tyto otázky. V neposlední řadě jasně prokázala schopnost hodnotit vlastní výsledky v kontextu již dosaženého poznání. Tím zřetelně prokázala způsobilost k samostatné vědecké práci. Mgr. Anetta Härtlová splňuje podmínky nutné pro obhájení dizertační práce. Dizertační práci doporučuji jednoznačně k obhajobě a hodnotím ji jako vynikající.

29.11.2010

Hradec Králové

prof. RNDr. Jan Krejsek, CSc.

Univerzita Karlova v Praze, Lékařská fakulta v Hradci Králové

Ústav klinické imunologie a alergologie