

POSUDEK NA DIPLOMOVOU PRÁCI

Bc. Věry Chvojkové

Adenylátcyklázový toxin *Bordetella pertussis* jako marker pro studium endocytózy komplementového receptoru $\alpha_M\beta_2$

Předložená diplomová práce je psána kvalitní srozumitelnou češtinou, bez překlepů a formálních nedostatků.

V cca 25 stránkovém literárním přehledu autorka shrnuje problematiku bakterie *Bordetella pertussis* a jejích toxinů, s důrazem na adenylátcyklázový toxin a jeho receptor – komplementový receptor $\alpha_M\beta_2$. Rozsah této části práce je dostatečný pro uvedení čtenáře do problematiky.

- Na straně 24 je uvedeno, že CD11b/CD18 je schopen v plasmatické membráně interagovat s různými GPI-vázanými proteiny a poskytovat těmto molekulám schopnost transmembránové signalizace. Mohla byste uvést více podrobností? Jak je tomu u buněk, které CD11b/CD18 neexprimují? Na jaké motivy v GPI-vázaných proteinech se CD11b/CD18 váže?
- Nechybí na straně 29, kde je popisován FRET příslušný vzoreček?
- Na straně 31 jsou zmíněny „bílé krvinky nebo makrofágy“ – je toto sousloví správné?

Kapitola „Experimentální část“ představující na cca 30 stranách materiál a metody je výborně zpracovaná, obsahuje všechny důležité informace a umožňuje reprodukování experimentů. Metodický rozsah, který si během své práce Věra Chvojková osvojila je velice nadstandartní. Práce kombinuje molekulárně-biologické, biochemické a buněčně-biologické přístupy, vše v mimořádné kvalitě a promyšlenosti.

- 4.2.8.6. Byly připravované primární kultury dendritických buněk z myší kostní dřeně. Jak byl kontrolován fenotyp přisedlých buněk, které jsou na str. 64 popsány jako makrofágy a bylo s nimi dále pracováno?
- 4.2.12.6. Jakého původu byl fluorescenčně značený transferin? Bylo pro inkubaci použito sérové nebo bezsérové médium.

Výsledky prokazují vědeckou kompetentnost autorky. Vše je jasně formulované a logicky uspořádané. Autorka začíná přípravou a purifikací příslušných variant cyklázového toxinu a jejich využitím pro aktivaci CD11b/CD18. Velká část práce je věnována studiu endocytózy jednotlivých variant toxinu v primárních myších dendritických buňkách/makrofázích (BMDC) – a to jak v aktivovaném, tak klidovém stavu, získané výsledky o změně endocytické dráhy byly potvrzeny s použitím dalšího buněčného typu – lidské myeloidní buněčné linie K562 transfekované CD11b/CD18, kterou si autorka sama připravila pomocí transientní transfekce, poté, co zjistila nestabilitu dříve v laboratoři připravených a využívaných stabilních transfektantů. Na závěr se autorka věnuje přípravě systému pro analýzu otevřené a zavřené konformace integrinu pomocí FRET.

- Na obrázcích 21 a 22 je ve srovnání s ostatními obrázky zřejmá změna v distribuci a vzoru endozomálního systému, kolokalizace signálu je jiného typu než je tomu na obr. 17, spíše ukazující na existenci rozdílných domén v rámci jednoho endozómu/lysosómu – jaká je vaše interpretace?

Stručná diskuse ukazuje autorčinu schopnost kriticky zhodnotit své experimentální výsledky a uvést je do kontextu s recentní literaturou. Všechny podstatné výsledky jsou diskutovány, této části práce není co vytknout. Použitá literatura je korektním způsobem citována

Celkově hodnotím předloženou diplomovou práci jako kvalitní. Jedná se o další příklad kvalitní vědecké výchovy Ladislava Bumbly (v laboratoři vedené Peterem Šebem). Doporučuji hodnotící komisi kladné hodnocení, práce splňuje všechna kritéria kladená na magisterskou práci v oboru imunologie akreditovaném na PřF UK v Praze. Osobně přeji autorce mnoho úspěchů v dobře nastartované kariéře.