

## **MIKROBIOLOGICKÝ ÚSTAV AV ČR**

Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

### **Mgr. Ladislav Bumba, PhD.**

Laboratoř molekulární biologie bakteriálních patogenů

Telefon: 241062141

E-mail: bumba@biomed.cas.cz

### **Posudek školitele na diplomovou práci Věry Chvojkové “Adenylátcyklázový toxin *Bordetella pertussis* jako marker pro studium endocytózy komplementového receptoru $\alpha\text{M}\beta\text{2}$ “**

Základem celé této práce je studium interakce adenylátcyklázového toxinu (CyaA) s jeho buněčným integrinovým receptorem CD11b/CD18 ( $\alpha\text{M}\beta\text{2}$ ) a následné buněčné procesy odpovídající na tuto událost.

Experimentální práce byla vypracována v Laboratoři molekulární biologie bakteriálních patogenů na Mikrobiologickém ústavu AVČR a cílem této práce bylo objasnit vztah mezi odlišnými způsoby endocytózy několika forem CyaA toxoidů, respektive jeho buněčného ligandu, komplementového receptoru CD11b/CD18. Věře se podařilo úspěšně připravit sadu fluorescenčně značených toxinů, které byly dále použity pro studium endocytózy na několika buněčných typech (jako např. myší dendritické buňky odvozené z kostní dřeně, či buněčná linie K562). Věře se podařilo ukázat, že CyaA toxoid, kterému sice chybí jeho enzymatická AC aktivita, ale který je stále schopen po navázání do membrány umožnit nejen vstup vápenatých iontů do cytoplasmy buněk ale i zároveň únik draselných iontů do vnějšího prostředí, způsobuje změnu konformačního stavu integrinové molekuly CD11b/CD18 z neaktivní (nízkoafinitní) do aktivní (vysokoafinitní) konformace. Tato konformační změna je s největší pravděpodobností doprovázena změnou endocytické dráhy CD11b/CD18 receptoru, a to z dráhy nezávislé na klatrinu (makropinocytoza) na dráhu závislou na klatrinu. Z mého hlediska se jeví tento poznatek jako velmi důležitý a pravděpodobně by mohl být obecně platný nejen pro rodinu  $\beta\text{2}$  integrinů, do které CD11b/CD18 receptor patří, ale i pro celou rodinu integrinových receptorů.

Za tímto výsledkem je velké množství práce, a řada experimentů, které nebyly nakonec kvůli rozsahu do magisterské práce zařazeny. Věra si ve velmi krátké době osvojila pestrou škálu základních molekulárně-biologických, biochemických a buněčně-biologických technik, jako např. práce s DNA, transfekce cizorodé DNA do

buněk, cytometrickou analýzu a v neposlední řadě práci s fluorescenčním mikroskopem a přípravou mikroskopických preparátů. Během řešení tohoto projektu se naplno projevily silné autorčiny stránky, jako je vysoké pracovní nasazení, zručnost, zdravá zarputilost a psychická odolnost. Poslední vlastnost bych rád zdůraznil, protože je podle mého mínění, nejdůležitější pro vědeckou práci. Zatímco ostatní vlastnosti lze úspěšně natrénovat, udržet si v laboratoři veselou mysl po několika měsících neúspěšného experimentování lze jen stěží. V průběhu práce Věra projevila zájem o studovanou problematiku, nečinilo ji nejmenší problémy se v ní orientovat a vyhledávat si k ní potřebné informace v odborné literatuře. Po krátké době tak byla schopna nejenom samostatně pracovat na zadaných úkolech, ale také si své experimenty samostatně plánovat a o získaných výsledcích zasvěceně diskutovat.

Výsledkem tohoto úsilí je předkládaná diplomová práce, která je z mého pohledu napsána na dobré úrovni. S ohledem na výše uvedené mohu konstatovat, že Věra prokázala schopnost samostatně pracovat, kriticky zhodnotit získané výsledky a úspěšně splnit vytčené cíle diplomové práce, kterou upřímně doporučuji přijmout k obhajobě se stupněm výborně.

V Praze dne 8. června 2012

Mgr. Ladislav Bumba, Ph.D.