

Posudek

na dizertační práci Mgr. Ondřeje Černého „**Signalizační působení adenylát-cyklázového toxinu na fagocyty**“

Dizertační práce Mgr. Černého vypracovaná pod vedením Prof. Ing. Petra Šeba, CSc. z Mikrobiologického ústavu AVČR, v.v.i. (MBÚ) naplňuje představu oponenta o kvalitní a významné výsledky přinášející doktorské dizertační práci.

- (1) Práce se zabývá aktuálním tématem buněčné biologie – objasněním molekulární podstaty působení adenylát-cyklázového toxinu (CyaA) na hlavní baktericidní pochody vrozené imunity se zaměřením na ROS a RNS.
- (2) Práce využívá moderní metody výzkumu. Mezi ně patří práce s primárními lidskými neutrofily a myšími dendritickými buňkami a makrofágy odvozenými z kostní dřeně, produkce rekombinantních proteinů, hmotnostní spektrometrie, detekce proteinů a vnitrobuněčného cAMP pomocí ELISA testů, imunoblotací techniky, stanovení ROS a RNS, metody RNA interference a další.
- (3) V práci bylo získáno několik prioritních poznatků, které jsou předmětem 3 publikací. Klíčovou je publikace v kvalitním mezinárodním časopise *J. Immunol.* s impakt faktorem (I.F.) 5,363 „*Bordetella pertussis* adenylate cyclase toxin blocks induction of bactericidal nitric oxide in macrophages through cAMP-dependent activation of the SHP-1 phosphatase“. Na této publikaci se šesti spoluautory je Mgr. Černý prvním autorem. Je potěšitelné, že tato kvalitní a obsáhlá práce odráží plně aktivitu řešitelského kolektivu z MBÚ pod vedením Prof. P. Šeba. Další dvě práce jsou v tisku nebo v revizi v rovněž kvalitních mezinárodních časopisech; v tisku je práce v *Cell. Microbiol.* (I.F. 4,915; Mgr. Černý je druhý z šesti spoluautorů) a na revizi je práce v *Immunol. Cell Biol.* (I.F. 4,147; Mgr. Černý je pátý z 11 autorů). Ačkoliv počet spoluautorů na těchto publikacích je značný, jak je obvyklé u tohoto typu prací, které odráží koordinované úsilí řady pracovníků, kumulativní impakt faktor (KIF) autora je 2,274 (za předpokladu přijetí práce v *Immunol. Cell Biol.*) a 1,955 (pokud práci v *Immunol. Cell Biol.* nezapočteme; výpočet KIF je uveden na konci tohoto posudku). Tato hodnota výrazně přesahuje nároky na KIF publikací dizertací u některých oborových rad (např. u Oborové rady vývojové a buněčné biologie se očekává KIF >1.0). Na tomto místě bych rád upozornil, že kromě těchto tří publikací, které jsou náplní dizertace, je Mgr. Černý spoluautorem ještě tří dalších publikací v kvalitních časopisech 1x v *RNA Biol.* (I.F. 4,974) a 2x v *Infect. Immun.* (3,731). Všechny tyto publikace byly zveřejněny v průběhu jeho práce na dizertaci a týkají se problematiky *B. pertussis*.
- (4) Práce má odpovídající strukturu: má kvalitně zpracovanou úvodní část (50 stran), která obsahuje řadu vhodně volených obrázků (15) a jednu tabulku. Dále následují cíle práce, materiál a metody (12 stran), výsledky (38 stran), diskuse (11 stran), závěry (1 strana) a seznam literatury (celkem 28 stran).
- (5) Kompaktnosti práce přispívá rejstřík, kontinuální číslování stran (celkem 148), abstrakt v češtině a angličtině, seznam používaných zkratk a několik užitečných schémat.

- (6) Práce je napsaná dobrou angličtinou a počet překlepů a formálních nedostatků je vzhledem ke kvalitě výsledků na hranici únosnosti; například diakritika a řecká písmena u řady referencí neodpovídají skutečnosti; mnoho zkratek chybí v seznamu zkratek (např. AKAP, CREB, DC, Ecap, PDE, GPCR, NET, GM-CFU, KSRP, LTB4) nebo v textu je uveden jiný význam zkratky než v seznamu zkratek (např. cAMP na str 18 a 121), někdy je zkratka poprvé použita bez vysvětlení a vysvětlení je uvedeno až později (např. zkratka NADPH je vysvětlena na str. 15, ale použita již na str. 10 a 11; zkratka cAMP je vysvětlena na str. 18, ale použita na str. 17). Odkazy na některé obrázky jsou chybné (např. na str. 115 se odkazuje na model v obr. 56, ale zřejmě se jedná o jiný obrázek).

Připomínky a otázky do diskuse

Autor dizertace se rozhodl zpracovat dizertaci ve formě klasické dizertace. Na rozdíl od nově pojatých dizertací, jejichž jádrem jsou spojené publikace, se jedná o práci v kompaktnější formě, kdy se neopakují úvodní pasáže, materiály a metody a části diskuse. Při použití klasické formy dizertace očekávám, že v práci jsou uvedeny výsledky a metody, které prováděl autor sám a ty experimenty na kterých participovali jiní spoluautoři publikací jsou zmíněny (pro dokreslení) a účast jiných autorů je explicitně uvedena. Není mi jasné, proč v práci není uvedena metoda pro stanovení NF- κ B (práce jiných autorů?), tak jak je tomu v práci J. Immunol, ale výsledky s NF- κ B jsou v dizertační práci uvedeny. Dovedu si představit, že zvolený způsob zpracování dizertace byl velkou časovou zátěží, která asi vysvětluje fakt, že v prvním listu dizertace je uveden rok 2014, ale práce byla dokončena až 26. 8. 2015.

Otázka 1. *V rámci obhajoby prosím uvést, které experimenty uváděné v dizertaci byly prováděné autorem dizertace a které byly provedeny jinými spolupracovníky a obecně, jaký podíl na experimentech uváděných v dizertaci zajišťovali spoluautoři. Vysvětlete rovněž proč je na prvním listu dizertace uveden rok 2014 a proč není v práci uvedena Supplementary Table 1, zmíněná na str. 67.*

Výsledky ukazují, že cAMP aktivační dráha kontroluje aktivitu SHP-1.

Otázka 2. *Pokuste se uvést možné způsoby regulace SHP-1 aktivity pomocí cAMP.*

V práci se diskutuje možnost, že nalezení SHP-1 inhibitorů by potenciálně umožňovalo léčbu časných stadií infekcí *B. pertussis*. SHP-1 má však důležitou úlohu i pro normální aktivitu jiných buněk.

Otázka 3. *Uvažujete o potvrzení Vašich nálezů v systému in vivo s využitím myši defektních v SHP-1 a co očekáváte vzhledem k infekci *B. pertussis*?*

V dřívější studii bylo zjištěno, že myši defektní v SHP-1 vykazují vyšší replikaci viru TMEV (J. Virol., 76: 8335-46, 2002).

Otázka 4. *Pokuste se nastínit možné rozdílné úlohy SHP-1 při infekci TMEV a *B. pertussis*.*

Závěr: Předkládaná práce splňuje veškeré požadavky kladené na doktorské dizertační práce a je v souladu s §47, odst. 4, zákona č. 111/1998 Sb. Doporučuji proto přijmout tuto dizertační práci k obhajobě a jako podklad k udělení doktorského titulu.

V Praze 16. 9. 2015

RNDr. Petr Dráber, DrSc.
Tel. 241 062 468,
e-mail:draberpe@img.cas.cz

Příloha

Výpočet KIF prací, které jsou podkladem dizertace Mgr. Černého:

Metodika výpočtu je uvedena ve zvláštní příloze Akademického Bulletinu, 2: 1-2, 1998
<http://abicko.avcr.cz/cs/archiv/1998/2/obsah/scientometrie-v-praxi.html>; navíc, první a korespondující autor se započítává 2x (+2)

Do výpočtu byly zařazeny tyto práce

J. Immunol. IF = 5,363, počet autorů 6 (+2), Mgr. Černý 1. autor

AIF = 1,341

Cell. Microbiol. IF = 4,915, počet autorů 6 (+2)

AIF = 0,614

Immunol. Cell Biol. IF = 4,147, počet autorů 11 (+2)

AIF = 0,319

KIF: 2,274 za předpokladu, že práce v Immunol. Cell Biol. bude přijata

KIF: 1,955 v případě, že práce v Immunol. Cell Biol. přijata nebude

p.s. KIF nevyovídá o kvalitě publikací, ale může být určitým hrubým vodítkem pro odhad kvality časopisů ve kterých jsou publikace zveřejněny a normalizací na počty autorů na publikacích.