



POSUDEK NA DIZERTAČNÍ PRÁCI Mgr. Marty Zajacové

REGULATION OF HLA CLASS II GENES EXPRESSION

Předložená dizertační práce je zaměřena na aktuální téma molekulárních mechanismů regulace exprese jedné z klíčových molekul podílejících se na orchestraci imunitní odpovědi – MHC II. třídy. Předložená práce je solidním příkladem snahy pochopit mechanismy regulující imunitní odpověď na úrovni exprese molekul prezentujících antigen, problém o to složitější, že HLA molekuly obecně vykazují široký interpersonální polymorfismus a individuální variabilitu na mnoha úrovních popisu. Autorka si pro svou analýzu zvolila redukcionistické uspořádání – zvolila si studium regulace transkripce dva konkrétní geny dva geny – HLA-DQA1 a HLA-DQB1, kde se detailně zaměřila na epigenetiku – metylaci promotorové oblasti s použitím bisulfitového sekvenování. Dále pomocí RT-qPCR analyzovala úroveň exprese mRNA jednotlivých alel v plné krvi a separovaných buněčných populacích – monocytech a B-lymfocytech. Jak autorka sama na několika místech konstatuje, využitý zjednodušený model není schopen vysvětlit pozorované odchylky od pracovní hypotézy, popř. asociaci s T1T, jedná se ale o pečlivě provedenou studii, která následovníkům napomůže nevstupovat do některých slepých uliček.

Po formální stránce je dizertační práce pečlivě zpracovaná, obsahuje minimum formálních pochybení. Práce je sepsána solidní angličtinou, je sepsána srozumitelně, na můj vkus obsahuje příliš dlouhé věty, ale každý autor má jiný styl. Literární úvod prokazuje autorčinu orientaci v tematice, metodiky jsou dostatečně popsány pro jejich detailní pochopení. Diskuse je významnou součástí práce, pečlivě se věnuje jednotlivým výsledkům s důrazem na ty, kde nebyly prokázány statisticky významné korelace, či byla odlišnost vůči již publikovaným, nebo nezapadají do obecného interpretačního kontextu. I zde je zřejmé, že se autorka velice dobře orientuje ve studované problematice a prokazuje tak potřebnou interpretační pokoru.

Dizertační práce je založena na dostatečném počtu publikací s solidních biomedicínských časopisech, na třech z nich je Marta Zajacová prvním autorem. Je možné konstatovat, že i po této stránce předložená doktorská práce splňuje požadavky kladené na tento typ prací v příslušné oborové radě i v rámci DSP v Biomedicině.

K práci bych měl několik dotazů, většinou obecnější povahy:

1. *Jednou z revolucí, kterou v biologii, a potažmo v biomedicině, zažíváme je možnost genetických přístupů na úrovni jednotlivých buněk – celogenomové sekvenování, expresní profilování... Existuje single-cell metodologie i pro studium metylace (ideálně na celogenomové úrovni)? Tento dotaz je motivován tím, že vaše práce je založena na analýze primárních buněčných populací, které mohou vykazovat (a v realitě vykazují) významnou heterogenitu a jejichž individuální expresní profily se mohou navzájem potlačovat.*
2. *V práci se zaměřujete na studium regulace exprese na úrovni mRNA, studovanou pomocí RT-qPCR. Pro reálnou imunologickou situaci, popř. imunopatologii je však zásadní přítomnost příslušného proteinu. Máte nějaká data korelující vámi získané expresní kvantifikace na úrovni transkripce (regulace stability transkriptu) s povrchovou expresí příslušné varianty molekuly MHC II. třídy?*



3. *Je něco známo o možné odlišné expresi/aktivitě/polymorfismu molekul, které „čtou“ genomové metylační značky a následně ovlivňují genovou expresi v jednotlivých studovaných buněčných typech? Stejný dotaz se týká i molekul, které by měly být zodpovědné za příslušný metylační vzor.*

Na závěr bych chtěl konstatovat, že předložená dizertační práce Mgr. Marty Zajacové prokazuje nejen autorčinu vědeckou erudici, ale i schopnost do pečlivě editovaného spisu srozumitelným způsobem formulovat složitá vědecká fakta a hypotézy. Dizertační práce „REGULATION OF HLA CLASS II GENES EXPRESSION“ splňuje požadavky kladené na Univerzitě Karlově, Přírodovědecké fakultě na kvalifikační práce doktorského studia a ji doporučuji k obhajobě.

v Praze 21. 6. 2018

prof. RNDr. Jan Černý, Ph.D.