

Mgr. Lenka Zárybnická
Vědecký pracovník
Katedra radiobiologie
Fakulta vojenského zdravotnictví
Univerzita Obrany
Třebešská 1575
500 01 Hradec Králové

Oponentský posudek magisterské diplomové práce
Bc. Jany Válkové

Název projektu: **Změny v expresi povrchových znaků B buněk
po infekci *F. tularensis***

Nositel projektu: Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická,
katedra biologických a biochemických věd

Řešitel projektu: Bc. Jana Válková

Oponent: Mgr. Lenka Zárybnická

Zaměstnavatel: Ministerstvo obrany ČR, Tychonova 1, Praha 6
Tel. 973 253 221, r.č. 8353293157

Předložená práce byla řešena jako magisterská práce, má celkem 79 stran. Skládá se z literárního úvodu (18 stran textu), metodické části (13 stran), výsledků (23 stran) a diskuze výsledků se závěrem (6 stran). Graficky je velmi dobře dokumentována 28 obrázky a grafy. Literatura obsahuje 49 citací.

Práce je psána srozumitelnou formou se středně dobrou strukturovaností. Do teoretické části autorka zahrнула široké spektrum informací, které podávají ucelený pohled na danou problematiku a vycházejí z velké části ze současných vědeckých poznatků. Zároveň zde dobře charakterizovala studovaný model B buněk, včetně možných cest jejich aktivace po bakteriální infekci. Na druhou stranu je v textu opomenut bližší popis použitého zvířecího experimentálního modelu.

Cílem uvedené práce bylo stanovit změny v expresi povrchových znaků B buněk po *in vivo* a *ex vivo* infekci *F. tularensis* a přispět tak k objasnění úlohy B buněk v organismu v rámci časně imunitní odpovědi. Domnívám se, že autorka použila ke studiu vhodný model, který v kombinaci s metodou průtokové cytometrie přináší validní vědecké informace. Analyzovaný panel aktivačních molekul, který zahrnuje šest povrchových znaků (CD54, CD69, CD86, CD95 MHC II a CD11b/CD18) společně se dvěma diferenciačními znaky (CD19 a CD5), se dá považovat za značně rozsáhlý.

Metoda tříbarevného značení je náročnou technikou průtokové cytometrie, která vyžaduje vysoké dovednosti jak při samotném měření tak zejména při analýze získaných dat. V diplomové práci je vyhodnocování dat podrobně popsáno a doplněno obrázky, které však nejsou vždy zcela přehledné. Výstupní údaj střední intenzity fluorescence (MFI) vypovídá o míře exprese sledovaných buněčných znaků. Vzhledem ke skutečnosti, že MFI je do určité míry závislé na aktuálním nastavení optických parametrů analyzátoru, je dle mého mínění vhodnější za výstupní informaci zvolit poměr MFI analyzovaného vzorku ku MFI negativní kontroly, společně analyzované za stejného nastavení přístroje.

Autorka stanovila změny v expresi aktivačních znaků slezinných B buněk po infekci *in vivo* a peritoneálních B buněk po infekci *in vivo* a *ex vivo* ve shodě se zadáním diplomové práce a na základě statistické analýzy (Studentův T-test) okomentovala statisticky významné rozdíly v expresi. V diskuzní a závěrečné části práce je průběh změn zhodnocen v souvislosti s funkčními vlastnostmi jednotlivých molekul a s ohledem na současné dostupné vědecké poznatky, což svědčí o dobré orientaci autorky ve studované problematice.

Po prostudování předkládaného textu připojuji tyto poznámky:

1. V celkovém měřítku se jedná o rozsáhlou práci, která svým experimentálním obsahem výrazně převyšuje běžné diplomové práce. Tato skutečnost se však negativně odráží ve skutečnosti, že práce nemá ucelenou podobu a některé markery nebyly proměřeny z časových důvodů. Zároveň za účelem statistické významnosti je vhodnější provádět experiment v triplikátech.

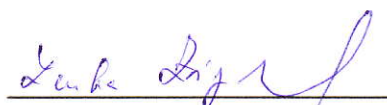
2. V experimentální části studuje autorka CD5 pozitivní subpopulaci B buněk. Jak však sama uvádí, povrchový znak CD5 je zároveň exprimován na zralých T lymfocytech. Na základě stanovení tohoto jediného povrchového znaku tedy nelze prohlásit, že se jedná o B buňky.

3. Vzhledem k možnostem průtokové cytometrie by bylo možné text doplnit také o informaci, jaké je procentuální zastoupení obou studovaných subpopulací CD19⁺CD5⁻ a CD19⁻CD5⁺ ve vzorcích, které byly vyšetřeny na přítomnost aktivačních markerů.

Závěr :

Obsahem i rozsahem magisterská diplomová práce splňuje podmínky kladené na tyto práce. Autorka prokázala, že je experimentálním pracovníkem s literárními znalostmi, jak použitých laboratorních metod, tak i výbornými teoretickými znalostmi z této oblasti. Práce byla naplánována, provedena a sepsána vědecky odpovídajícím způsobem a přinesla nové vědecké poznatky týkající objasnění úlohy B buněk v časné fázi imunitní odpovědi po infekci *F. tularensis*. Proto navrhuji předloženou práci po zodpovězení výše uvedených otázek **přijmout** k obhajobě a hodnotím ji klasifikačním stupněm **výborně**.

V Hradci Králové dne 15. května 2009



Mgr. Lenka Zárybnická, v.r.