

POSUDEK OPONENTA

Diplomant: Bc. Alena Orlíková

Název diplomové práce: Studium fenotypového profilu a pasivní ochrany imunosuprimovaných myší v průběhu experimentální infekce *Francisella tularensis*

Oponent: Mgr. Adéla Strašková, PhD. (straskova@alga.cz)

Diplomantka Bc. Alena Orlíková vypracovala svou diplomovou práci v laboratořích Ústavu molekulární patologie Fakulty vojenského zdravotnictví Univerzity obrany v Hradci Králové. Diplomová práce s názvem „Studium fenotypového profilu a pasivní ochrany imunosuprimovaných myší v průběhu experimentální infekce *Francisella tularensis*“ je v rozsahu 103 stran včetně přílohové části a v seznamu použité literatury je uvedeno celkem 153 citací. Teoretická část obsahuje rešerši o studované bakterii včetně popisu patogeneze infekce a umožňuje čtenáři seznámit se s danou problematikou. V teoretické části jsou navíc podrobně popsány použité metodiky zahrnující i krátký úvod do problematiky radiobiologie. Experimentální část se skládá ze seznamu chemikálií, výpisu použitého materiálu, přístrojů, připravovaných roztoků a ze samotného popisu prováděných experimentů. V porovnání s celkovým rozsahem práce jsou výsledky spolu s diskuzí a závěrem v rozsahu 14 stran. Následující přílohová část poté obsahuje 26 grafů s výsledky měření.

Diplomová práce splňuje zásady pro vypracování a stanovené cíle zadání, připomínky mám však k formální stránce diplomové práce.

Připomínky:

- Překlepy: imunosuprimovaných namísto imunosuprimovaných (str. 12); dále str. 13 první popis tularémie bylo zřejmě dne 19. září 1907 namísto např. první popis tularémie lze datovat ke dni 19. září 1907 atd.; králíky namísto králíky (str.14); fermentují namísto fermentují (str.15) atd.
- Nepřesnosti typu „podtyp *F. tularensis* subsp. *tularensis* se dále dělí na podtyp A1a, A1b a A2“ – to už nejsou podtypy, ale tzv. clades = geneticky rozdílné biologické druhy, které pocházejí z jednoho předka (str. 14)
- Epidemiologická data o tularémii ve světě (str. 20, kapitola 2.2.2) jsou nedostatečná – největší výskyt případů ročně je ve Skandinávii a USA, toto vůbec není zmíněno
- Vzhledem k tomu, že se práce zabývá myším modelem tularémie, tak postrádám v literární rešerši popis zvířecích modelů, které se pro výzkum tularémie používají
- Nejednotné používání dein. vs. deion. H₂O (např. str. 48, kap. 3.6); nejednotné uvádění hodnoty pH: pH 8 vs. pH-8 (str. 47, kapitola 3.5.5 a 3.5.6)
- Za naprosto zbytečné považuji velmi podrobné popisování laboratorních postupů. Nemyslím si, že je nutné psát např. „Do stojánku jsme si připravili zkumavku, do které jsme nepipetovali 6 ml roztoku PBS.“ (Str. 45, kapitola 3.5.2.) Za důležitější považuji

uvést koncentraci/ředění PBS – byl použit 1x PBS anebo 10x PBS? Navíc je ve stejném odstavci chybně uvedena koncentrace bakterií při naměřeném O.D. = 1. Diplomantka uvádí, že při O.D. = 1 je počet bakterií v 1 mL 1×10^9 namísto 3×10^9 /mL; dalším příkladem podrobného popisu postupu je kapitola 3.7.2. na str. 50 – zde by stačila věta „Po sestavení aparatury jsme nalili 12% separační gel atd.“

- Hovorové výrazy typu eppendorfky (str. 45, kapitola 3.5.3) nebo falkonky (str. 52, kapitola 3.7.5) dle mého soudu do diplomové práce nepatří, lze nahradit výrazem mikrozkušavky (od f. Eppendorf)/ centrifugační zkumavky (od f. Falcon)
- V experimentální části mi chybí kapitola o experimentálním myším modelu – odkud byl zakoupen, jak byl uchován, vyživován, sterilní vs. nesterilní prostředí atd.
- Výsledková část: u kapitoly 4.2.2 na str. 62 je odkaz na tabulku, která je umístěna v teoretické části, vhodnější by bylo tabulku přemístit do části výsledkové, protože se přímo týká daného pokusu
- Schéma infekce (tabulka 4.3, 4.4, 4.5 na str. 65, 66 a 67) by bylo vhodnější uvést v části experimentální
- Diplomantka v první části diskuze pouze shrnula naměřené hodnoty a jejich změny. Toto patří spíše do výsledkové části a ne do diskuze.

Přes uvedené nedostatky, týkající se formálního zpracování diplomové práce, je možné konstatovat, že práce má dobrou vědeckou úroveň a proto ji **doporučuji k obhajobě**.

Navrhovaná klasifikace: **dobře**

Otázky do diskuze:

Jaké je antibiotikum první volby při léčbě onemocnění tularémie?

Ve svých experimentech uvádíte, že byla provedena optimalizace růstu *F. tularensis* z důvodu obohacení bakteriálního vzorku o potřebné proteiny. Jaký časový interval byl zvolen?

Pro studium tularémie se kromě BALB/c myši používají i C57BL/6 myši. Jaký je rozdíl mezi těmito dvěma liniemi a jaký je rozdíl v jejich odpovědi na tularémickou infekci?

Ve vaší práci byla provedena částečná komparativní analýza imunoreaktivních proteinů *F. tularensis* pomocí proteomického přístupu. Jaký je další postup při identifikaci nalezených proteinů? Jaké metody se používají?

V Třeboni 21. 5. 2013

Mgr. Adéla Strašková, PhD.

