

**UNIVERZITA KARLOVA  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra Biologických a lékařských věd

Studijní program: Farmacie

**Posudek oponenta diplomové práce**

Rok obhajoby: 2024

Autor/ka práce: **Michaela HUDÁKOVÁ**  
Vedoucí práce: RNDr. Klára KONEČNÁ, Ph.D.  
Konzultant/ka: doc. PharmDr. Ivona PÁVKOVÁ, Ph.D.  
Oponent/ka: PharmDr. Ondřej JANĎOUREK, Ph.D.  
Název práce: **Izolace exozómů produkovaných makrofágy infikovaných  
*F. tularensis***

Rozsah práce: 67 stran, 10 obrázků, 12 tabulek, 3 grafy, 53 citací

**Hodnocení práce:**

- |  |             |
|--|-------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části:               | výborná     |
| b) Náročnost použitých metod:                                  | výborná     |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost):   | výborné     |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat:                     | výborná     |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost):          | velmi dobré |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy:              | výborné     |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků:                | výborná     |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů:            | výborná     |
| i) Splnění cílů práce:   | výborné     |
| j) Množství a aktuálnost literárních odkazů:                   | výborné     |
| k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň):          | velmi dobrá |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | výborná     |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Diplomová práce Michaely Hudákové se věnuje tématu spojenému s výzkumem bakterie *Francisella tularensis*, kterou vypracovala na katedře Molekulární patologie a biologie Vojenské lékařské fakulty Univerzity Obrany pod vedením doc. PharmDr. Ivony Pávkové, Ph.D. Tomuto tématu se na tomto pracovišti věnují dlouhodobě a diplomantka tak přispěla svou prací k doplnění dalších poznatků ohledně bakterie *F. tularensis*, resp. metod zkoumajících virulenční faktory a jejich stanovení/identifikaci. V teoretické části jsou stručně, ale přehledně, shrnuty informace o bakterii a dále problematika exozómů, která je s tématem úzce spjata. V praktické části diplomantka navrhla a popsala poměrně náročené experimenty, které poté zhodnotila a správně uvedla do kontextu současného poznání.

Celá práce je standardně členěná, obsahuje všechny náležitosti a malé množství překlepů či stylistických chyb. Na základě uvedeného hodnocení práci doporučuji k obhajobě a navrhuji ji i k uznání jako práci rigorózní.

### Připomínky:

V práci je malé množství překlepů (např. str. 8 - and and; str. 12 - radu vs. rady; 20 - okULoglandulární; str. 29 - do centrifugační zkumavky; str. 35 - stáčaný vzduch). Někdy jsou použity trochu zavádějící výrazy pravděpodobně vycházející z anglických označení (str. 10 - původ nákladu; str. 32 - filter blokov). Na str. 13 je zavedena zkratka MBV, ale domnívám se, že by to mělo být MVB (viz. obr. 2). A zároveň je tu zmiňován lysozym, ale spíše sem patří lysozóm. U některých obrázků nejsou kompletní vysvětlivky (2, 3). Není *Francisella novicida* již samostatným druhem? V rámci diagnostiky - trochu lépe specifikovat/popsat. Protilátky bych asi nehledal ve vředu a možná více jak kultivace, tak se využívá PCR vzhledem k rychlosti? Ve výčtu materiálu jsou drobné nedostatky (státy, Sigma-Aldrich vs. Merck, PBS vs. dPBS, zkratka pro deoxycholát, PEN-STR - to je roztok či chemikálie). Kapitola 7.2.1 - 4 plotny vs. 3 kmeny? Na str. 31 je uvedená kontrola bez popisu, co obsahuje. Zkratka RT není zavedena. U mikroskopických obrázků chybí celkové zvětšení, příp. měřítko. U grafu 2B nesedí popisky měření. V tabulkách 11 a 12 jsou geny uvedeny bez kurzivy a zkratka NIH neodpovídá textu NLH. Na str. 55 - sérovar se nepíše kurzivou. V seznamu zkratek některé chybí (např. DNA, miRNA, CD, DUC, FTSI, BMM,...) a nezařazoval bych chemické vzorce (nejedná se o zkratku).

### Dotazy:

- 1) Na str. 14 zmiňujete HLA a to obě třídy. Opravdu to tak je vždy pro obě třídy? A jak se uvedené molekuly dostávají do exozomů?
- 2) V tabulce 1 uvádíte, že dochází ke snížení aktivity kaspáz, ale zároveň i zvýšení. Jak je to možné? Nejde to proti sobě?
- 3) Jak je to s infekční dávkou u tularémie?
- 4) Opravdu neexistuje očkování nebo neexistovalo?
- 5) Jaká je životnost takto získaných makrofágů? Po jaké době začínají tvořit cytotoxické působky? Většinou makrofágy žijí poměrně dlouho. Nebylo by tedy vhodné prodloužit interval, příp. změnit i buněčnou linii (např. za lidskou)?

**hodnocení, práce je: výborná**

**k obhajobě: doporučuji**

V Hradci Králové

8. září 2024

podpis oponenta/ky