

Hodnocení školitele:

Magisterská diplomová práce Františka Musila: „Možnosti a limity RNA interference u klíštěte *Ixodes ricinus*“

František Musil začal pracovat na své magisterské diplomové práci v naší laboratoři zhruba před dvěma lety. V té době jsme velmi potřebovali pomoci s metodikou RNA interference, zejména zjistit ve kterých stádiích, tkáních a jak dlouho RNAi funguje. Proto byl František od samotného počátku pod dohledem Ondry Hajduška, který metodu RNAi u klíšťat na našem ústavu zavedl. František nejprve pracoval na tzv. chitin-binding proteinu, který je produkován klíštěcími slinnými žlázami a o jehož funkci nevíme dosud nic. RNA interference pomocí klasicky aplikované dsRNA zafungovala poměrně dobře. Zdá se, že eliminace tohoto proteinu snižovala schopnost klíšťat dokončit sání na svém hostiteli a jako velmi zajímavý se ukázal i fakt, že RNAi měla vliv i na fagocytózu spirochety *Borelia burgdorferi* klíštěcími hemocyty. Toto byl jediný případ z cca 20-ti jiných testovaných molekul, jejichž knock-down se na buněčné imunitní odpovědi vůči boréliím nijak neprojevil. Další, z naší strany možná nepřilíš šťastně zvolenou molekulou, byla RNA interference dvou isoform katepsinu B - hlavní trávicí peptidázy ve střevě klíštěte. RNA interference pomocí mikroinjikace nebyla příliš průkazná, proto František zkoušel i způsob aplikace dsRNA pomocí sání z kapiláry. Ani v tomto případě nebylo utlumení exprese katepsinů B jednoznačné. Myslím, že v tomto případě není problém na straně experimentátora, ale je způsobeno ohromným nárůstem exprese mRNA během sání, na jejíž úplné potlačení prostě aplikovaná dsRNA nestačí. Přesto se zdálo, že u některých jednotlivých klíšťat RNA interference katepsinu B funguje a škodí, protože schopnost těchto klíšťat úspěšně se dosát během sání byla významně snížena oproti kontrolní skupině. Tento výsledek je dostatečně motivující pro naše další testování vakačního potenciálu katepsinu B.

František Musil pracoval na své diplomové práci zodpovědně a pečlivě, i když její experimentální náročnost by si asi zasloužila větší nasazení. Samotnému sepsání své diplomové práce věnoval František poměrně dost času, takže jsme mohli konečnou podobu práce přiměřeně konzultovat. Myslím, že se František v naší laboratoři vyučil široké škále metod v experimentální molekulární biologii a získal tak dobrý základ pro svou budoucí kariéru, o níž však osobně nemám bližší představu.

Jsem přesvědčen, že magisterská diplomová práce předložená Františkem Musilem jednoznačně splňuje požadavky kladené Přírodovědeckou fakultou a proto ji příslušné komisi doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích, 21. května 2009



Petr Kopáček (školitel)