

Hodnocení školitele:

Magisterská diplomová práce **Heleny Pěničkové: „Peptidázy v trávicích buňkách klíštěte *Ixodes ricinus* – lokalizace a funkce “**

Helena Pěničková pracuje v naší laboratoři od roku 2005 a touto svou magisterskou diplomovou prací navázala na problematiku, kterou řešila již během svého bakalářského studia. Od samotného počátku byly její hlavní specializací mikroskopické techniky, které se zprvu učila od Veroniky Burešové a Marušky Vancové. Již během bakalářských studií Helena dosahovala dostatečně kvalitních výsledků, takže se celkem přirozeně stala součástí našeho týmu, na kterou jsem se obracel s problémy vyžadující spolehlivou imunolokalizaci různých molekul v klíštěcích tkáních. Helena si osvojila potřebnou škálu mikroskopických technik zahrnující různé způsoby fixace, přípravy a krájení bločků a optimalizaci samotné imunodetekce. Musím přiznat, že já jako školitel jsem ji v tomto ohledu nebyl k ničemu a jenom jsem se spoléhal na to, co se Helena s pomocí ostatních ochotných kolegů naučí. Velký pokrok nastal s příchodem nového konfokálního mikroskopu na Entomologický ústavu a také s novým postupem přípravy specifických protilátek afinitním čištěním na koloně s navázaným rekombinantním antigenem. V tento moment se pozitivní signály na preparátech jasně rozsvítily a získaným výsledkům jsme začali věřit. Helena provedla velice pěknou dynamickou studii exprese trávicích papainů cathepsinu Ba L v průběhu sání a v současné době přemýšlíme, jak tyto výsledky co nejlépe publikačně prodat. Určitou pochybnost máme ještě o výsledcích získaných při lokalizaci cathepsinu D, proto se zřejmě pokusíme tuto práci zopakovat s novými protilátkami. Svoji pracovitostí i zájmem o studovanou problematiku si Helena zasloužila již během svého studia vyjet do zahraničí, takže v minulém roce měla možnost pobývat skoro měsíc v laboratoři Dr. Conora Caffrey na UCSF. Zde spolu s dr. Sašou Stefaničem učinila výrazný pokrok v ko-lokalizacích cathepsinu B a L ve střevních buňkách. Tento výsledek ve své diplomové práci neuviedla, protože, jak mě přesvědčila, tyto ko-lokalizace je nutné prokázat pomocí speciální analýzy obrazu, kterou ještě neovládáme. Do budoucna je však tato otázka pro nás zásadní, protože chceme vědět, které trávicí proteázy působí ve střevech společně a které ve specializovaných trávicích vakuolách. Problematika exprese, lokalizace a funkce proteáz v trávicích buňkách klíštěte je pro nás natolik nosná, že by se jí Helena měla zabývat i během předpokládaného doktorského studia na katedře Fyziologie a vývojové biologie.

K sepsání své diplomové práce přistoupila Helena zodpovědně a byla ji schopna dokončit a odevzdat bez výrazného stresu v požadovaném termínu. S obsahovou i formální úrovní diplomové práce Heleny Pěničkové jsem velmi spokojen, protože dobře dokumentuje současnou úroveň imunolokalizací v naší laboratoři dosažené z velké části její zásluhou. Těším se, že nám Helena i v budoucnu pomůže s řešením mnohých dalších biologických problémů v našem výzkumném postupu od molekul k jejich funkci v klíštěti.

Jsem přesvědčen, že magisterská diplomová práce Heleny Pěničkové splňuje kritéria požadované Přírodovědeckou fakultou JU pro její úspěšné obhájení před příslušnou komisí.

V Českých Budějovicích, 22. května 2009



Petr Kopáček (školitel)