

Vyjádření školitele k magisterské diplomové práci Bc. Adély Harcubové „Vakcinační potenciál cystatinu z klíštěte *Ixodes ricinus* „

Práce navazuje na bakalářskou práci Adély Harcubové „Vakcíny proti klíšťatům“. Poznatky z této rešeršní práce si Adéla vyzkoušela v praxi. Měla k dispozici rekombinantní bakulovirus s genem pro klíštěcí cystatin a pomocí tohoto vektoru připravila rekombinantní cystatin a purifikovala ho pomocí histagu a gelovou filtrací. Tento cystatin byl k imunizačním pokusům vybrán proto, že je produkován jak ve slinných žlázách, tak ve střevě a mohl by tak fungovat jako duální vakcína.

K imunizaci byly vybrány inbrední myši C3H/HeN. Vliv adjuvantní vakcinace cystatinem byl sledován pomocí několika parametrů jako je úspěšnost sání, vývoj klíšťat do dalšího stadia, obsah specifických protilátek a rozpoznatelnost dalších proteinů klíštěcích slin imunními séry. Bohužel se vliv imunizace cystatinem na výše uvedené parametry prakticky neprojevil. Jednou z příčin může být to, že tento cystatin je exprimován ve slinných žlázách klíštěte až poslední den sání a tak nelze předpokládat jeho imunomodulační úlohu. V použitém testovacím modelu tento cystatin zřejmě nefunguje ani jako skrytý antigen. Bylo by zajímavé zjistit, zda by úspěšnost imunizace mohla být ovlivněna výběrem jiného hostitele, na příklad králíka nebo morčete. Tito tak zvaní arteficiální hostitelé vyvíjejí mnohem účinnější imunitní odpověď na sání klíšťat, která často vede k úhynu klíšťat nebo alespoň k poruchám sání a vývoje.

Z pohledu školitele musím konstatovat, že Adéla pracovala samostatně, seznámila se s literárními údaji, prokázala nezbytnou laboratorní zručnost, navrhla experimenty, vyhodnotila výsledky a dokázala je diskutovat. Asi by jí neškodilo větší pracovní nasazení právě v souvislosti s použitím jiného (dalšího) hostitele pro imunizační pokusy. Musím zde ale zdůraznit, že na vedení diplomové práce se rozhodujícím způsobem podílel školitel specialista, Jiří Salát.

Závěr: Podle mého názoru Adéla Harcubová splnila požadavky kladení na magisterskou diplomovou práci, a proto ji doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích 23. 5. 2012



Prof. RNDr. Jan Kopecký, CSc.