



RNDr. Lenka Grunclová, Ph.D.  
Biologické centrum AV ČR, v.v.i.  
Parazitologický ústav  
Branišovská 31  
370 05 České Budějovice

---

Oponentský posudek na bakalářskou práci Hany Slabé

**„Identifikace genu pro nový peptid, TILr, s inhibiční aktivitou proti serinovým proteázám  
v klíštěti *Ixodes ricinus*“**

V práci autorka řeší problematiku inhibitoru serinových proteáz obsahujícího na cystein bohatou doménu s inhibiční aktivitou proti trypsinu. Jako cíl si autorka určila vypracování literární studie, optimalizaci technik pro detekci a izolaci genu a konečnou identifikaci genu pomocí molekulárně-biologických metod tj. PCR, klonování, sekvenace, exprese proteinu v bakteriálním systému.

Práce je relativně přehledná, srozumitelná, s množstvím obrázků. Má 46 stran je členěna na několik kapitol literárního úvodu, cíle práce, materiál a metody, výsledky, diskuzi, závěr a literaturu. Je vyvážená a svým rozsahem odpovídá nárokům na bakalářskou práci. Autorka splnila vytyčené cíle práce a výsledky úspěšně sepsala a diskutuje s množstvím literárních zdrojů.

K formální stránce práce mám tyto připomínky:

Literární rešerše je dobře sepsaná, bez chyb a překlepů, svým rozsahem 10 stran odpovídá cílům práce autorky. Členění práce je logické a přehledné. Chyby jsou v citované literatuře, několik citací chybí v závěrečném přehledu literatury a několik jich naopak přebývá.

Po faktické stránce mi vadí neuvedení čtenáře do situace: Autorka používá, jak sama píše, gen-specifické primery, ale neuvádí odkud je odvodila, není tedy jasné, kde vzala výchozí sekvenci. Z názvu vyplývá, že autorka identifikuje nový peptid, ale časem vyplyne, že jde jen o fragment, částečnou sekvenci, v kapitolách Materiál a metody a Výsledky neuvádí autorka v textu primery ani templáty použité pro PCR.

U jednotlivých kapitol mám tyto připomínky:

**Materiál a metody**

Str.18: U klonování není jasné, který produkt byl klonován, viz výše problém uvedení primerů

Str.19: Expese proteinu – je uveden nulový vzorek před přidáním IPTG, ale o míře indukce exprese by více vypověděl vzorek po 6 hod bez přidání IPTG

**Výsledky**

Str. 20: Syntéza cDNA - teprve později vyplyne z jakých RNA a z jakého množství byla syntetizována cDNA

Str. 21: PCR - jaký templát použila autorka na kontrolu aktinem? Teprve v kapitole Expese v tkáních je zřejmé, že autorka nakonec testovala všechny, u uvedeného obrázku č.1 však tato informace chybí Stejně tak chybí informace u obr.2.

Str. 22: obr. 3 – přivítala bych kompletní sekvenci včetně vyznačeného signálu a případně dalších důležitých částí fragmentu genu

Str. 25: obr. 8 – proč se liší velikost fragmentů aktinu v jednotlivých tkáních?

---

## Diskuze

Str. 32: Autorka tvrdí, že: klíšťata mohou využívat serpiny k manipulaci obrany hostitele, aby si usnadnila přenos patogenů. Přikláním se spíše k tvrzení, že patogeny využily schopnost klíštěte manipulovat hostitelem k usnadnění příjmu potravy, což nakonec autorka také uvádí dále.

Na autorku mám několik doplňujících dotazů:

Kde je původ sekvence, z které byly odvozeny primery?

Proč autorka neidentifikovala a nesyntetizovala kompletní protein?

K čemu bude využit získaný rekombinant?

Jak by autorka ověřila inhibiční aktivitu daného proteinu?

Jak dopadly vakcinační pokusy se serpiny zmiňované v úvodní literární rešerši?

Závěrem:

Autorka zvládla základní metody molekulární biologie, úspěšně je aplikovala na studovaný gen a dosažené výsledky jsou podle mne dobrým základem pro případnou další práci na tomto tématu.

Přes všechny připomínky jsem přesvědčena, že předložená práce splňuje nároky Přírodovědecké fakulty JU na bakalářskou práci, proto ji doporučuji k obhajobě jako jeden z předpokladů udělení titulu Bakalář. Navrhuji známku 1-2 v závislosti na obhajobě.

V Českých Budějovicích dne 7. 1. 2014

Lenka Grunclová

