

Školitelský posudek na bakalářskou práci **Hany Slabé** na téma: „**Identifikace genu pro nový peptid, TILIr, s inhibiční aktivitou proti serinovým proteázám v klíštěti *Ixodes ricinus***“.

Zadání bakalářské práce vycházelo z problematiky řešené v laboratoři Molekulární ekologie vektorů a patogenů se zaměřením na analýzu diferenciálně exprimovaných genů indukovaných v klíštěti po krmení krví nebo infekci patogenem. V ontogenezi klíštěte je podnětem zásadního významu sání krve na hostiteli po kterém následuje aktivace celé řady genů, jejich exprese a syntéza příslušných proteinů. Mezi geny klíštěte *Ixodes ricinus*, jejichž exprese byla indukována tímto způsobem, patří například geny kódující inhibitory proteáz.

Hlavními cíle práce Hany Slabé byli seznámení a osvojení laboratorních metod běžně používaných v molekulární biologii, jako RNA/DNA purifikace, cDNA syntéza, PCR, elektroforéza, klonování, sekvenování, a následovnou jejich optimalizaci pro detekci a izolaci genu pro peptid s inhibiční aktivitou proti serinovým proteázám v klíštěti po indukci.

Výsledky práce představené Hanou Slabou značně přesáhly naše očekávání a také, podle mého názoru, i požadavky k bakalářským pracím. Krátce, osvojení výše uvedených metod vedlo k identifikaci a izolaci části nového genu kódujícího protein s inhibiční aktivitou proti serinovým proteázám u klíštěte *I. ricinus* (KF963196). Byla zjištěna přítomnost TIL domény která je důležitá pro inhibici proteáz. Gen prokázal homologii s řadou genů kódujících jiné inhibitory serinových proteáz z různých druhů klíšťat a dalších organismů a, překvapivě, podle pilotní fylogenetické analýzy, byl více příbuzný inhibitorům serinových proteáz klíštěte *I. scapularis*, než *I. ricinus*. Byla prokázána exprese genu výhradně ve střevech klíštěte *I. ricinus* což potvrzuje zapojení TILIr do trávení krvi. Byly amplifikované fragmenty genu ze sekvencí signálního peptidu a bez ní, a pomocí hmotnostní spektrometrie byla prokázána úspěšná produkce rekombinantního proteinu v expresním bakteriálním systému. Všechny výše uvedené cíle byly úspěšně splněny.

Práce Hany Slabé je součástí grantového projektu GAČR zabývajícího se studiem peptidů z antimikrobiálními potencialy v klíšťatech. Řada výsledků získaných Hankou byla úspěšně použita v závěrečné zprávě grantu. Výsledky výzkumu provedeného Hankou jsou dobrým základem pro další pokračování studia.

Během působení v laboratoři Hanka se předvedlá jako výsoce motivovaný samostatný zodpovědný pracovník, velice milý a optimistický člověk. I při větší pracovní zátěži byla vždy ochotna v případě nutnosti poskytnout pomoc ostatním členům laboratoři, což jsme vsichni moc ocenily. Díky vysoké úrovni znalostí angličtiny a schopnosti orientovat se v obrovském množství vědecké literatury, Hana byla schopna úspěšně zpracovat současné znalosti o antimikrobiálních peptidech a inhibitorech serinových proteáz u klíšťat, úspěšně interpretovat získané výsledky a porovnat je s již publikovanými údaji.

Na závěr bychom chtěla říct, že práce Hany Slabé podle mého názoru splňuje všechny nároky pro získání bakalářského titulu a doporučuji je k obhajobě. Navrhuji ohodnocení 1 (výborně).

V Českých Budějovicích  
Dne 18.01.2014

Školitel Dr. Nataliia Rudenko