

Školitelský posudek na magisterskou práci Bc. Lucie Ouředníkové na téma:

„Izolace a charakterizace nového antimikrobiálního peptidu (IRAMP), exprimovaného ve slinných žlázách klíštěte obecného *Ixodes ricinus*.“

Zadání magisterské 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. Jelikož *Ixodes ricinus* je významným evropským přenašečem chorob, jako je lymská borelióza či klíšťová encefalitida, studium bylo zaměřeno na analýzu antimikrobiálního peptidu tohoto druhu klíštěte.

Cílem práce bylo:

Z klíšťat *I. ricinus* izolovat totální RNA, která bude použita k syntéze kDNA. Pomocí prajmerů, navržených pro analogický antimikrobiální peptid izolovaných z klíštěte *Ixodes scapularis* (ISAMP), získat a osekvenovat PCR produkt specifický pro *I. ricinus* (IRAMP) a dále pomocí 5' RACE PCR ověřit sekvence 5' konce.

Části navrhovaného studia byla také produkce rekombinantního peptidu v prokaryotním systému, následující přečištění a antimikrobiální studie rekombinantního proteinu. Od samého začátku jsme věděli, že úspěch této části práce může být negativně ovlivněn výjimečně malou velikostí zmíněného peptidu.

Dále cílem práce bylo pomocí semi-kvantitativní RT-PCR nebo „real time“ PCR studovat exprese genu v různých tkáních klíštěte.

Zároveň byla odebíraná hemolymfa z polo nasátých klíšťat s cílem ověření antimikrobiální aktivity nativního proteinu.

Byla pořízena literární studie k uvedené problematice.

Všechny výše uvedené cíle byly úspěšně splněny. V průběhu práci nad projektem Lucie zvládla velké množství různých technik molekulární biologie, biochemických a analytických metod a postupů.

Práce Lucii Ouředníkové je součástí grantového projektu GAČR zabývajícího studiem antimikrobiálních peptidů v klíšťatech.

I když se nepodařilo potvrdit antimikrobiální aktivitu Lucie získala celou řadu důležitých výsledků které byly úspěšně použity v závěrečné zprávě pro 2. rok působení grantu.

Během působení v laboratoři Lucie se předvedla jako vysoce motivovaný samostatný vědecký pracovník, velice milý a optimistický člověk, vždy připravený pomáhat a podporovat ostatní členy laboratoři.

Díky vysoké úrovni znalostí angličtiny a schopnosti orientovat se v obrovském množství vědecké literatury, Lucie byla schopna úspěšně zpracovat současné znalosti o antimikrobiálních peptidech klíšťat, úspěšně interpretovat získané výsledky a porovnat je s již publikovanými údaji.

Během své práce Lucie navázala spolupraci s dalšími laboratoři našeho ústavu, také prováděla část své práce v Praze, v Ústavu organické chemie a biochemie Akademie věd České republiky pod vedením Dr. Václava Čeřovský, PhD. odkud také získala jen samé pozitivní reference.

Na závěr bych chtěla říci, že nam bylo velice příjemně pracovat s Lucií a mít je v naší laboratoři a doufám že Lucie bude v budoucnosti pokračovat ve své vědecké práci, i když bohužel ne v naší laboratoři.

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

V Českých Budějovicích

Dne 18.01.2013

Školitel Dr. Nataliia Rudenko, PhD

