

Školitelský posudek na magisterskou práci Bc. Davida Hartmanna „Charakterizace a funkce Faktoru C z klíštěte *Ixodes ricinus*“

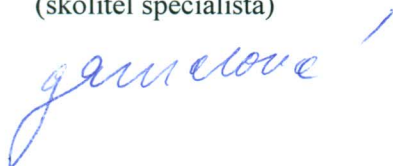
David Hartmann nastoupil do naší laboratoře na jaře roku 2012. Jako téma magisterské práce mu byl nabídnut projekt klíštěcí molekuly podobné tzv. Faktoru C z koagulační kaskády ostrorepa. Tato multidoménná serinová proteáza funguje u ostrorepa jako sensor lipopolysacharidů gram-negativních bakterií a spouští koagulaci hemolymfy využívané v tzv. Limulus testu pro citlivou detekci endotoxinů. Nedávné práce japonských autorů dále ukazují, že Factor C funguje i jako konvertáza aktivující C3-složku komplementu u ostrorepa. Molekula anotovaná jako Limulus clotting factor C byla nalezena i v genomu klíštěte *Ixodes scapularis*.

Úkolem Davida Hartmana bylo identifikovat, sekvenovat a charakterizovat gen pro faktor C u klíštěte *Ixodes ricinus*. Získání celé sekvence molekuly o délce cca 3200 bp pomocí překrývajících se PCR 5- resp. 3- RACE fragment ukázalo, že gen pro faktor C u *I. scapularis* je neúplný a zřejmě obsahuje chybnou predikci některých exonů. Pomocí kvantitativní real-time PCR David určil, že klíštěcí faktor C je převážně exprimován v klíštěcích hemocytech. Ve své práci David dále připravil dva nepřekrývající se rekombinantní fragmenty faktoru C, proti kterým získal protilátky, pomocí nichž detekoval přítomnost molekuly o velikosti cca 80 kDa v klíštěcí plasmě. Funkci Faktoru C se David pokusil objasnit metodou RNA interference, která vedla ke snížené fagocytóze Gram-negativních bakterií (následující práce Dr. Veroniky Urbanové). Na výsledky Davida pak navazovaly experimenty, které prokázaly zvýšenou expresi faktoru C při poranění klíštěte a jeho možné funkci v koagulaci hemolymfy.

David Hartmann zvládl velmi záhy metody molekulární biologie využívané v naší laboratoři. Je schopen samostatně a pečlivě vést experimenty a kriticky vyhodnocovat získané výsledky. Na sepsání magisterské práce si ponechal poměrně krátký čas, což se projevilo hodně úspornou úvodní a diskusní částí. Výsledky získané Davidem Hartmanem a ostatními pracovníky laboratoře jsou v současné době zpracovávány do publikace s pracovním názvem „An *Ixodes ricinus* injure responsive molecule related to Limulus Factor C functions in phagocytosis of Gram-negative bacteria by tick hemocytes“. Jsme přesvědčeni, že diplomová práce Davida Hartmanna jednoznačně splňuje kritéria pro její úspěšné obhájení před příslušnou komisí Katedry medicínské biologie Přírodovědecké fakulty JU a je solidním základem pro jeho eventuální přijetí do dalšího doktorského studia na této katedře.

V Českých Budějovicích dne 14.1.2014

RNDr. Lenka Grunclová, PhD.
(školitel specialista)



RNDr. Petr Kopáček, CSc.
(školitel)

