



Posudek oponenta na bakalářskou diplomovou práci Karolíny Dostálové

„Interakce *Borrelia burgdorferi* s. s. a *Borrelia afzelii* s buněčnými liniemi klíšťat *Ixodes ricinus* a *Ixodes scapularis*“

Téma bakalářské práce Karolíny Dostálové se týká vztahu mezi původcem lymeské nemoci a jejími přenašeči, klíšťaty rodu *Ixodes*. Ačkoliv v této oblasti existuje nepřehledné množství nejrozličnějších publikací, informace v nich obsažené jsou často dvojznačné nebo si vzájemně odporují, takže jakékoliv nové výsledky považuji za přínosné a tudíž i téma této práce za zajímavé.

Po formální stránce má předložená práce tradiční členění a rozsahem čítajícím 32 stran patří mezi úspornější, což je dáno hlavně stručným úvodem psaným na devíti stranách. Většina gramatických a stylistických chyb zřejmě pramení z dvojjazyčného prostředí v laboratoři školitele, např.:

- jména a příjmení použitá ve větě se skloňují a přechylují (např. hned v poděkování: ...*děkuji svému školiteli Ryanu Regovi, Dmitriji Loginovovi a Lesley Bell-Sakyiové...*)
- stejně tak se přechylují i prvoautorky publikací, pokud ve větě figurují jako větný člen (např. místo *Teixeira et al. zkoumali* píšeme *Teixeirová s kolektivem zkoumali* – str. 9)
- Proteiny v buňce se *exprimují*, ne *expresují*
- Pokud o nějakém genu prohlásíme, že je tzv. *downregulovaný*, znamená to, že byla snížena jeho *exprese*, ne *regulace*.
- Buněčná linie nebyla *objevena*, ale spíše *připravena*, genom nebyl *objeven*, ale *popsán*.

Za zásadní a poměrně dobře zpracovanou považuji kapitolu 1.5 shrnující související výzkumy v oblasti interakcí klíšťaty přenášených patogenů s klíštěčnými buněčnými liniemi. V tomto kontextu je pak zřejmé, proč byly vytyčeny zvolené cíle práce. Metodika je pečlivě zaznamenána a závažnější připomínku mám pouze k popisu centrifugace, kde je správnější uvádět násobky tíhového zrychlení *g*, event. *rcf* (relative centrifugal force) spíše než *rpm* (revolutions per minute). Zvolený způsob prezentace dosažených výsledků nepovažuji za optimální. Nedoporučuji pojmenovávat kapitoly „Výsledky série 1“ apod., ale např. „Vliv ko-kultivace klíštěčích buněk na expresi proteinů borelií“ tak, aby bylo už z názvu zřejmé, o co v daném experimentu šlo. Nejsem expert na SDS-PAGE, ale domnívám se, že pozitivní kontrola na obr. 6, vyříznutá zřejmě z jiného gelu, by měla být přiřazena ve stejném měřítku, jako jsou ostatní vzorky. Legenda k fotografiím gelů je nedostatečná, tak jako tak je nutné se vrátit na začátek kapitoly, aby čtenář zjistil, co který vzorek vlastně představuje. Naopak musím vyzdvihnout, že autorka čerpala informace z 57 odborných publikací v impaktovaných časopisech a vyvarovala se v poslední době tak rozšířenému zlovyku citování dlouhých pasáží z učebnic (nezřídka středoškolských), populárně-naučných časopisů a jiných nevhodných zdrojů.

Na autorku mám následující dotazy a faktické připomínky:

- 1) Jaký v současné době převažuje názor na transovariální přenos borelií?
- 2) Ad obr. 5, str. 8: Jak by se podle Vás chovaly borelie v L15BS médiu se savčími (např. lidskými) buňkami?
- 3) Na str. 12 tvrdíte, že klíštěčí buňky byly kultivovány ve *zkumavkách*. Prosím o upřesnění, v jakých nádobách byly buňky skutečně pěstovány.



- 4) Pokud by v sérii 1 nedošlo ke kontaminaci vzorků III-VI, jak byste v buněčném lyzátu rozlišila, zda případný rozdíl (chybějící nebo naopak nově exprimovaný protein) pochází z borelií nebo z klíštěcích buněk?
- 5) Ad obr. 7, 8, 9, 12, 13: Proč byl stejný vzorek nanášen vždy do tří jamek gelu?
- 6) Ad obr. 10: Kdo prováděl MS analýzu? Pokud byl použit standardní protokol štěpení trypsinem, pak červeně zvýrazněné peptidy mají končit lysinem (K) nebo argininem (R). Také je chybný popis, celá sekvence je OspB, červeně označené jsou peptidy, které MS software zřejmě použil k identifikaci proteinu.
- 7) Jaká je fyziologická funkce OspB v životním cyklu borelií?

Závěr: Karolína Dostálová si v rámci práce na bakalářském projektu osvojila zásady sterilní práce nutné pro kultivaci buněčných linií a rovněž se naučila manipulovat s infekčním materiálem, což bude v dalším výzkumu výhodou. Ačkoliv prezentace získaných dat má zatím jisté nedostatky, pevně věřím, že se jich autorka podaří při nejbližší příležitosti vyvarovat. Celkově předložená práce splňuje nároky kladené na bakalářské práce na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity a **doporučuji** ji k obhajobě.

V Českých Budějovicích 12. května 2017

RNDr. Helena Langhansová, Ph.D.