

**Posudek školitele na bakalářskou práci Dominiky Reichensdörferové s názvem
"Kultivace klíšťaty přenášených babesii a charakterizace jejich proteasomu jako nového
terapeutického cíle".**

Dominika přišla do naší laboratoře v roce 2017 jako nadějná studentka bakalářského stupně PřF JU. V té době jsme začínali s úplně novým a pro nás revolučním tématem: kromě tradiční práce na klíšťatech a jejich fyziologii jsme se začali věnovat i klíšťaty přenášené babesióze a nově získali standardní GAČR grant na studium jejich proteázomu jako potenciálního cíle pro nalezení dosud chybějící specifické terapie. V té době byla selektivní inhibice parazitárních proteázomů horkou novinkou zejména u babesiím blízce příbuzné malárie, jak bylo prokázáno našimi dlouholetými spolupracovníky z University of California v prestižním časopise Nature, se kterými úzce spolupracujeme i na tomto tématu. Téma Dominiky práce proto bylo jasné a kladlo si za cíl: nakultivovat dostatečné množství dvou zoonotických druhů Babesie (*B. divergens* a *B. microti*), připravit lyzát parazitů, detekovat aktivitu alespoň chymotrypsinové $\beta 5$ podjednotky proteasomu v lyzátu parazitů a pokusit se o purifikaci celého 26S komplexu za účelem dalšího studia substrátových preferencí těchto proteolytických podjednotek pomocí multiplexové pozičně skenovací peptid-substrátové knihovny. Tato metoda byla poprvé použita pro studium "našeho" rekombinantního cathepsinu D (IrCD1) z klíštěte *Ixodes ricinus* a představuje základní nástroj použitý pro determinaci selektivních preferencí malárie oproti lidskému proteázomu ve výše zmíněné Nature publikaci. V průběhu dvou let projektu jsme ale bohužel dosti tvrdě narazili s předpokladem analogie experimentálních postupů pro babesie a malarická plasmodia na základě jejich evoluční příbuznosti. Jak vyšlo záhy najevo, izolace babesiální cytoplazmy s aktivním proteázomem se zdál být nepřekonatelný problém. Přitom jasný a jednoduchý krok izolace cytoplasmatické frakce z malárie (pozn. stačí opakovaně zmrazit a pak ultracentrifugovat při 1000g) se změnil v "thriller" pro celou skupinu studentů a postdoků pracujících na projektu. V rámci této bakalářské práce se proto musel velmi "rozvázně" testovat vhodný postup pro získání aktivního proteázomu babesii v rozpustné formě zejména s ohledem na finanční a časovou náročnost na získání dostatečného množství parazitů a chybějící literární odkaz na fungující protokoly. Dominika po celou dobu navštěvovala ve smluvené časy laboratoř a velmi přispěla ke konečnému vyřešení problémů s izolací proteázomu babesii. V rámci její práce jsme se nakonec dostali i k pilotnímu experimentu purifikace pomocí iontové chromatografie, který je ale nutné zopakovat a zoptimalizovat. Bakalářskou práci pak vypracovala samostatně za odborného vedení mnou a své školitelky specialistky Dr. Jalovecké. Práce podle mého subjektivního hodnocení splňuje všechny požadavky na získání bakalářského titulu a práci proto doporučuji k obhajobě.

V Č. Budějovicích, 21. května 2019

RNDr. Daniel Sojka, Ph.D.

