



Přírodovědecká
fakulta
Faculty
of Science

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

POSUDEK OPONENTA NA BAKALÁŘSKOU/DIPLOMOVOU* PRÁCI

Autor práce: Hana Pejšová

Název práce: Alergenogenní epitopy i klíšťat

Školitel práce: RNDr. J. Štěrbá, Ph.D.

Oponent práce: Marie Vancová

Pracoviště opONENTA: PaÚ, BC

	Bodový rozsah hodnocení ¹	Body
(1) FORMÁLNÍ POŽADAVKY		
celkový rozsah práce (pro bakalářské práce min. 18 stran, pro diplomové práce min. 25 stran), vyváženost rozsahů jednotlivých částí, logická struktura práce (u experimentálních prací doporučení pro teoretickou část do 1/3 celkového rozsahu)	0-3	2
kvalita literární rešerše (počet použitých původních pramenných zdrojů, vhodnost výběru, aktuálnost zdrojů)	0-3	2
správnost používání citačních odkazů (přítomnost necitovaných údajů, dodržování jednotného stylu citací, používání oficiálních zkratk časopisů)	0-3	1
grafická úprava textu a obrázků	0-3	3
úroveň souhrnu/anotace (i v angličtině)	0-3	1
jazyková a stylistická úroveň, respektování platného názvosloví	0-3	2
správnost a úplnost popisů u obrázků a tabulek (srozumitelnost bez zřetele k ostatnímu textu, vysvětlení značek, jednotky uváděných veličin)	0-3	2

* Nehodící se škrtněte

¹ Bodový rozsah hodnocení: 0-nevyhovující, 1-vyhovuje, 2-průměrné, 3-excelentní. U teoretických prací hodnotíte jenom (1) Formální a (2) Věcné požadavky, u experimentálních prací i (3) Věcné požadavky experimentálních prací, u prací v cizím jazyce i (4) Jazykovou úroveň práce v cizím jazyce.

(2) VĚCNÉ POŽADAVKY

výstižnost formulace cílů práce a jejich splnění	0-3	2
schopnost porozumět výsledkům, jejich interpretace a jasný popis, srozumitelnost diskuze a závěrů	0-3	2
úroveň diskuse – interpretace výsledků, zařazení do kontextu v literatuře (absence diskuze výsledků s literaturou je nepřijatelná)	0-3	1
logika postupu při vlastní výzkumné práci	0-3	1
úplnost popisu použitých metodik	0-3	2
experimentální náročnost práce,	0-3	2
úroveň zpracování experimentálních dat	0-3	1
aktuálnost použitých metod	0-3	2
přínos práce pro obor a publikovatelnost výsledků (po případném doplnění)	0-3	0
Věcné požadavky u experimentálních prací – body celkem		13

(3) PRÁCE V CIZÍM JAZYCE

jazyková a stylistická úroveň	0-3	2
-------------------------------	-----	---

CELKEM BODŮ (MAX/ZÍSKANÝCH)

21/27/3

13/13/2

Komentář oponenta:

Úvod o klíšťatech je zdařilý, i když strukturou (kap 2.1) připomíná bakalářskou práci Z. Šimonové: Určení N-glykomu klíštěte *I. ricinus* a *D. marginatus* z roku 2011. Kvalita a čtivost literární rešerše má však v následujících kapitolách sestupnou tendenci. Některá tvrzení z konce úvodu jsou nepřesné a neobratně vysvětlené, např. str. 13, kap 2.6.4: „Vazby, které vznikají mezi lektiny a sacharidy jsou relativně slabé, avšak dokáží se vázat na určitý glykan v celé škále ostatních a jejich vazba na takový glykan je vysoce afinitní. Proto se antiglykanové protilátky a lektiny používají k detekci glykanů velmi rozšířeně.“ Některé kapitoly, zejména kap. 2.5 Cross-reactive carbohydrate determinants) obsahuje pouze informace z review, původní citace chybí úplně.

Cíle jsou jasně formulované, ale k jejich dosažení bohužel nedošlo. Osobně považuji za zásadní neotestování kvality komerčních lektinů pro vazbu na Gal α 1 $\rightarrow$ 3Gal, případně proč nebyly při opakovaném neúspěchu izolace využity například protilátky proti α -Gal antigenům. Jako zdroj materiálu pro izolaci Gal α 1 $\rightarrow$ 3Gal byly použity buňky z kultury IRE 11, kde přítomnost struktur pozitivně vázajících lektin GSL B4 byla velmi nízká (dle fluorescenčního značení, což může být opět způsobené nekvalitní značící próbou). Proč nebyly otestovány jiné kultury případně tkáně klíštěte? Dále chybí informace o kontrolách značení, u protilátek nejsou uvedené použité koncentrace. U obrázků z fluorescenčního mikroskopu je uvedeno "přibližně 400x". Využití měřítka dnes již nabízí pravděpodobně všechny softwary ke kamerám. Není jasné, zda byl v průběhu metody Western blot použit jako blokovací roztok 5% mléko nebo 5% BLOT-QuickBlocker (co obsahuje?). Použití 5% mléka, jak je uvedeno v kapitole 3.1.5. pro blokování před vazbou lektinů nepovažuji za vhodné, z důvodu přítomnosti malého množství glykoproteinů (Freeze, 2001. Doi:10.1002/0471142727.mb1707s23).

Jelikož nebyl ukázán žádný důkaz, že GSL I B4 váže Gal α 1 $\rightarrow$ 3Gal (informace z příbalového letáku lektinu nepovažuji za důkaz specifity) a nebyla úspěšně dokončena žádná identifikace izolovaných glykanů pomocí hmotností spektrometrie, nepovažuji závěr, že přítomnost Gal α 1 $\rightarrow$ 3Gal antigenu byla prokázána v liniích klíštěte, za správný. Z textu anotace by měla být vymazána nepravdivá informace, že byly identifikovány purifikované proteiny pomocí hmotnostní spektrometrie.

V literatuře jsem našla informaci, že byla prokázána také vazba GSL 1 B4 na disacharid Gal α 1 $\rightarrow$ 4Gal (např. Wu et al. 1995 nebo Kirkeby and Moe 2001, doi: 10.1046/j.1440-1711.2001.00992.x). Dalo by se zjistit, zda izolované proteiny váží Gal α 1 $\rightarrow$ 4Gal nebo alergenogenní epitop Gal α 1 $\rightarrow$ 3Gal?

Wu et al. 1995: Affinity of *Bandeiraea (Griffonia) simplicifolia* lectin I, isolectin B4 for Gal α 1 $\rightarrow$ 4Gal ligand. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 216: 814-820.

Závěr:

Práci doporučuji k obhajobě a navrhuji známku 3 .

V Český Budějovicích dne **14. 5. 2018**

Marie Pancora