



BIOLOGICKÉ CENTRUM AV ČR, v. v. i.

adresa: Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice
telefon: +420 387 771 111 (ústředna)
+420 387 775 051 (ředitelství)

IČ: 60077344 | DIČ: CZ60077344
číslo účtu: 5527231/0710, ČNB České Budějovice
www.bc.cas.cz | e-mail: bc@bc.cas.cz

Školitelský posudek bakalářské práce

Autorka BP: Sára Kropáčková

Oponenti BP: Jindřich Chmelař, PhD

Název BP: Diferenciální exprese transkriptů slinných žláz klíštěte *Ixodes ricinus*

Sára Kropáčková je studentkou PřF JU a vypracovala svou bakalářskou práci na katedře molekulární biologie a genetiky. Vlastní práce byla řešena na Parazitologickém ústavu Biologického centra. Sára se připojila k výzkumnému týmu Dr. Petra Kopáčka v létě 2017, kde zprvu absolvovala úvodní metodické kolečko. Sára byla poté zapojena do přípravy doplňujících dat pro submitaci rukopisu týkajícího se regulace exprese v slinných žlázách klíštěte.

Na rozdíl od lidí a většiny živočichů, klíšťata dramaticky mění „repertoire“ svých transkriptů ve slinných žlázách v závislosti na čase. Pokud se klíště přisaje v pondělí, najdete v jeho slinách jiné proteiny v úterý, jiné ve čtvrtek. Toto již bylo známo, nás ale zajímalo, jestli transkripty slinných žláz podléhají expresní regulaci i v závislosti na přítomnosti/absenci/typu hostitelské imunity. Identifikovali jsme několik desítek „DEGs“, které bylo potřeba ověřit pomocí RT-qPCR. Sára, i přes veškerou její citlivost, pomáhala s provedením experimentu od samého začátku: získat králičí krev, připravit krev skládající se z heat-inaktivovaného séra a červených krvinek, membránové sání klíšťat, mikro-disekce slinných žláz, izolace RNA (ověření její kvantity a integrity), syntéza cDNA a konečně i RT-qPCR. Je tedy i zaslouženou spoluautorkou vědecké publikace (PLoS Negl Trop Dis).

Sára se dále věnovala studii proteinu (Antikomplement 1; AC1), jehož transkript měl vysoký diferenciální poměr exprese ve slinných žlázách mezi klíšťaty sajících 1 den na živém hostiteli a klíšťaty sajících 1 den jen na hostitelské krvi přes membránový systém. Zprvu bylo potřeba ověřit, jestli naše data z úrovně RNA jsou translatované do proteinové úrovně. Sára se tedy pustila do heterologní exprese rekombinantního proteinu. Díky vysoké predikované i experimentálně prokázané glykosilaci začala Sára zprvu s Dr. Danielelem Sojkou snahou o expresi proteinu v kvasinkovém systému. Jelikož tento přístup nevedl k potřebné expresi, uchýlili jsme se k výtežkovější expresi v *E. coli*. Sára poté strávila nespočet hodin a dnů optimalizací exprese, purifikačních kroků, provedením proteolytického odštípnutí tagu a imunodetekčních metod, kde ji za mé nepřítomnosti v roce 2018 pomáhal zejm. Mgr. Jan Kotál. Její nasazení bylo ale skutečně ohromující, což vedlo k nevídané produktivitě.

Jsem přesvědčen, že si Sára osvojila základní i středně pokročilé metody molekulární biologie a proteinové biochemie. Svě výsledky pravidelně přednášela na „lab meetinzích“ a to jak v českém,



tak i v anglickém jazyce, byli-li přítomni zahraniční hosté či studenti. Práci vykonávala samostatně s pravidelnými kritickými sezeními se školiteli.

Závěrem: Jsem rád, že se Sára připojila k našemu týmu a děkuji jí za její perfektní práci. Pevně doufám, že bude s námi i nadále pokračovat během svého magisterského studia. Předkládaná bakalářská práce jistě splňuje formální i kvalitativní požadavky fakulty, a proto ji doporučuji k obhajobě a hodnotím jako výbornou.

V Českých Budějovicích, 23.5.2019

Jan Perner, PhD