

**Školitelský posudek na magisterskou diplomovou práci Bc. Libuše Turjanicové s názvem „Protilátková odpověď specifických hostitelů vůči antigenům ptačích schistosom“ vypracovanou na Katedře parazitologie PřF UK v Praze v r. 2012.**

Školitel: RNDr. Libor Mikeš, PhD., Katedra parazitologie PřF UK v Praze

Předložená diplomová práce měla za cíl sledování protilátkové imunitní odpovědi kachen jednorázově infikovaných ptačími schistosomami rodu *Trichobilharzia*, zejména neuropatogenním druhem *T. regenti*. Součástí bylo i porovnání odpovědi kachen mladých s odpovědí kachen ve věku zralého imunitního systému a odpovědi kachen infikovaných opakovaně. Toto úsilí by mělo vyvrcholit nalezením a charakterizací antigenů vhodných pro imunodiagnostiku trichobilharziózy u specifických hostitelů. Za tímto účelem byla testována i imunoreaktivita dostupných rekombinantních antigenů *T. regenti* se séry infikovaných kachen.

Tato práce je v jistém smyslu ojedinělá, protože imunitní odpovědi specifických hostitelů vůči ptačím schistosomám se dosud nikdo nezabýval. Oceňuji proto, že v literárním úvodu práce podává studentka vzhled do specifik protilátkové odpovědi u ptáků včetně přehledu a charakteristik tříd ptačích imunoglobulinů. Vzhledem k „neprozkoumanosti terénu“ se v další části úvodu věnuje proteinům, které jsou známy jako antigenní v případě lidských schistosom – tomuto tématu se mnohem podrobněji věnovala již ve své bakalářské práci. Tyto informace by mohly být využitelné při hledání antigenů ptačích schistosom, neboť, jak se ukazuje, existují zřejmě konzervované struktury proteinů u schistosom, jež vyvolávají protilátkovou odpověď u různých hostitelů. Na tuto část úvodu navazuje přehled údajů o identifikovaných antigenech ptačích schistosom navozujících protilátkovou odpověď u nespecifických hostitelů, kde je výzkum o něco napřed, zřejmě díky možnosti výskytu cercáriové dermatitidy – nicméně i zde existují jen víceméně kusé informace.

Práce je klasicky členěná a jazykově poměrně slušně zpracovaná. Díky množství dat, zejména z Western blotingu, která bylo nutno zpracovat a prezentovat, nebylo snadné vytvořit text, který by byl „lehce stravitelný“. Tento byl v průběhu psaní několikrát upraven, takže ve finále poměrně přehledně vysvětluje získané výsledky – i přesto však nepatří mezi texty, které by se četly „jedním dechem“. V této souvislosti chci Libuši pochválit za velmi aktivní přístup při hledání vhodné formy prezentace dat z Western blotingu a její trpělivost při práci

s programem Quantity One a při konstrukci kontingenčních tabulek, resp. grafů, a jejich několikeré přepracování v zájmu větší srozumitelnosti kapitoly „Výsledky“. Metody jsou popsány adekvátně tak, aby byly reprodukovatelné. Diskusi považuji za přiměřenou – dokazuje, že autorka je schopna o výsledcích své práce přemýšlet a kriticky je hodnotit. V Závěru studentka připojila i vize svojí budoucí práce, naznačující, kam by se experimenty měly dále ubírat. Bohužel se při finálním zpracování nepodařilo uhlídat některé formální náležitosti, což jinak slušné práci trošku ubírá na jejím „lesku“ (např. místy neodpovídající čísla grafů v textu).

Studentka si osvojila v průběhu studia potřebné metody parazitologické (udržování životního cyklu trichobilharzií v laboratoři, sběr materiálu na imunologické experimenty - cercárie z laboratorních plžů a schistosomuly z nervové tkáně kachen - a jeho zpracování), metody biochemické (měření koncentrace proteinů, separace proteinů pomocí SDS-PAGE, deglykosylace glykoproteinů), metody imunologické (ELISA a Western blotting) a metody molekulární biologie (izolace nukleových kyselin, PCR, klonování genů), které je nyní schopna rutinně používat.

Jako školitel zdůrazňuji, že experimenty byly poměrně časově náročné, množství blotů, které bylo nutno udělat, mohlo i „zavánět rutinou“. Libuše se však práce zhostila zodpovědně a s jejím přístupem jsem byl spokojen jak v průběhu experimentální části, tak při sepisování diplomové práce. Výsledky byly autorkou prezentovány opakovaně na konferenci Helminnologické dny.

Cíle práce považuji za splněné. Z výsledků, i když je jich solidní objem, nelze zatím dělat dalekosáhlé a jednoznačné závěry. Za velmi pozitivní považuji, že už nyní lze vytipovat antigeny, na které bude potřeba se v budoucnu soustředit. Kromě toho ve finální fázi je příprava rekombinantního antigenu (triozo-fosfát izomeráza), který bude možno dále testovat jako kandidátní pro imunodiagnostiku cercáriové dermatitidy. Studentka bude pokračovat na daném tématu i v rámci svého doktorského studia.

Podrobné kritické zhodnocení práce ponechávám oponentovi. Z pozice školitele považuji předloženou magisterskou diplomovou práci Libuše Turjanicové za poměrně kvalitní, vyhovující požadovaným kritériím a jednoznačně ji doporučuji k obhajobě.