

Posudek školitele na diplomovou práci Bc. Lenky Pacákové.

"Amastigoti různého původu: srovnání proteomu a vývoje v přirozeném přenašeči".

Lenka mě kontaktovala na jaře r. 2015, zdali by pod mým vedením mohla sepsat bakalářskou práci týkající se povrchových glykokonjugátů leishmanií a jejich interakce s imunitním systémem hostitele. Po pravdě jsem z toho nebyla nadšená, jak by se u prvního studenta dalo předpokládat, jelikož jsem měla pochybnosti, zdali jsem schopna Lenku vést a pomoci sepsat smysluplnou práci. Nicméně Lenka mě „udolala“ a bakalářskou práci obhájila na výbornou. Již v té době jsem v Lence vycítila vědecký potenciál a schopnost kriticky a samostatně uvažovat nad problematikou experimentů, a tak jsem kývla na Lenčinu žádost vést i diplomovou práci.

Jeden by se ani nenadál a dneska tu stojí při obhajobě diplomky, která se zabývá odlišným tématem, a to porovnáním amastigotů různého původu s ohledem na jejich proteom a vývoj v přirozeném vektorovi. Nejen pro Lenku, ale i pro mě to byla velká výzva, protože jsem nám vymyslela dost ambiciózní téma, ve kterém jsem byla mnohdy pouze o krok před Lenkou, a to často jenom teoreticky. A tak jí nastala cesta typu pokus-omyl.

Prvotní plány, pracovat s druhem *Leishmania major* jako modelovým organismem, ztroskotaly hned na začátku, jelikož se nepodařilo připravit axenickou kulturu amastigotů tohoto druhu. Dalším nezdarem bylo, když po půlročním čekání na druh *L. mexicana* exprimující GFP, jejichž konstrukci se nabídla udělat ostravská laboratoř prof. Slávy Yurchenka, Lenka zjistila, že po nějaké době tato leishmanie v savčím hostiteli zhasíná vlivem epigenetických změn. Takže představa, o snadné kvantifikaci amastigotů v lézi Balb/c myši, se nám taky velice rychle rozplynula. Ale alternativní řešení se dá téměř vždy nalézt, a tak Lenka s mírným skluzem pokračovala dál. První část experimentů, zaměřená na porovnání vývoje *L. mexicana* v *Lu. Longipalpis* při sání třech typů amastigotů, přišla právě včas, a Lence zvedla po dosavadních nezdarech náladu a chuť pokračovat. S výsledky jednotlivých experimentů jsme byly spokojené, a tak se mohlo přejít k náročnější části diplomové práce - kvantifikaci a srovnání proteinů individuálních typů amastigotů. Celá část byla prováděna v Biocevu pod dohledem školitele specialisty Mgr. Karla Haranta. Lenka ani tady nezklamala se svým smyslem pro humor, protože při první cestě do Vestce zezelenala a svěřila se mi, že se jí vlastně dělá v autobusech dost špatně, a tak si prožila druhou, majoritní, část svých experimentů se vším všudy 😊.

Ani tady se nedařilo na první dobrou. Materiál z léze myši obsahoval jen malé množství leishmaniových proteinů v poměru s proteiny myšního původu, na což Karel suše řekl, že s tím něco máme dělat a že pod 10 % proteinů leishmanií nejde. Lenka se iniciativně vrhla do prozkoumání literatury a snažila se najít co nejvíce způsobů na zbavení se myší tkáně. Nakonec se, po dlouhém testování nejrůznějších metod, výměna plastiku a použití chemikálie lyzující červené krvinky zdála uspokojující a mohla proběhnout proteomická analýza.

Za co bych Lenku chtěla nejvíce pochválit, je z mého pohledu kvalitní zpracování a interpretace proteomických výsledků a vůbec čtivá a jasně srozumitelná diskuze. Vůbec jsem do těchto částí nezasahovala a Lenka si poradila sama nebo konzultováním s Karlem či s doktorem Machem. Jak mi posléze řekl kolega Mach, proteomika v takovém rozsahu se prostě magisterským studentům nedává, leknou se a utečou. Ale Lenka neutekla a dneska tu stojí, aby si dost náročnou práci obhájila a dále na tématu pokračovala v rámci postgraduálního studia.

Aby to nebyla jen samá chvála, tak musím na Lenku prásknout i její slabší stránku, a to je dodržování deadlinů sepisování. Přestože tohle dílo mělo být obhájeno již na podzim, noční šichta den před odevzdáním nakonec nestačila a termín se tak musel posunout. Nevadí, věřím, že práce uzrála a vzrostla na kvalitě.

Lence závěrem děkuju za její samostatnost, praktičnost, její jedinečný smysl pro humor a schopnost udržet chladnou hlavu při nezdarech. Jsem ráda, že zrovna ona byla ten první student.

Samožřejmě děkuju i Karlovi Harantovi a jeho týmu za pomoc s proteomickou částí diplomové práce.

Detailní posouzení diplomové práce nechávám v kompetenci oponenta, ale já za sebe navrhuji hodnocení výborně, přestože pár výtek k práci mám.

V Praze, dne 22.1.2020

RNDr. Tereza Leštinová, Ph.D.