

## Posudek na magisterskou práci „Využití metody phage display při zkoumání povrchových antigenů *Leishmania mexicana*“

**Předkladatelka: Bc. Anna Krylová**

Školitelka: RNDr. Tatiana Spitzová, Ph.D.

Předkládaná diplomová práce si klade za cíl identifikovat peptidy, které se budou specificky vázat na povrchové antigeny parazita *L. mexicana* a v ideálním případě budou schopny přerušit životní cyklus parazitů v trávicím traktu flebotoma. Výsledkem studie jsou pak izoláty 16 fágů nesoucích peptidy cílené na *L. mexicana* a jejich následná charakterizace *in vitro* a *in vivo*.

Studentka si v rámci projektu osvojila řadu experimentálních technik jak z oblasti biochemie (phage display, dot blot, fluorescenční značení), tak biologické experimenty (kultivace *L. mexicana*, experimentální infekce flebotomů, disekce).

Formální stránka práce je zdařilá a popis experimentální postupů dostačující k případnému reprodukování experimentů. Menší výhrady mám k diskuzi, která je možná zbytečně obsáhlá a zahrnuje řadu tvrzení/spekulací, která nemají nezbytně oporu v experimentálních datech, a pro která mohou existovat alternativní (logičtější) vysvětlení.

Rád bych kandidátce položil následující dotazy:

1. Pouze jeden z izolovaných klonů obsahuje negativně nabitou aminokyselinu, zatímco drtivá většina obsahuje jednu nebo více kladně nabitých aminokyselin. Existuje, například vzhledem ke složení povrchových proteinů *L. mexicana*, pro takový nepoměr nějaký důvod?
2. Diskuze str. 59 – uvádíte, že „... byl zvolen dot blot místo testu ELISA, jelikož při testování se mohou fágy nespecificky navázat na polystyrenovou destičku...“. Nicméně samotný panning byl prováděn právě na polystyrenové destičce. Nemohlo zde rovněž dojít k nespecifické vazbě fágů?
3. Diskuze str. 61 – „Při fixaci leishmanií metanolem a acetonem byl pozorován silnější zelený signál. Pravděpodobně byl způsoben vazbou fágů i na jiné než povrchové molekuly leishmanie, jelikož při této fixaci dochází k perforaci buňky“. Proč předpokládáte, že fágy selektované na povrchové proteiny *L. mexicana*, se budou rovněž specificky vázat na intracelulární proteiny?
4. Jelikož jak zmiňujete ve Vaší diplomové práci byla použitá technika phage display na pracovišti nová, co byste retrospektivně změnila na Vašem experimentálním přístupu?

Závěrem můžu konstatovat, že předkládaná magisterská práce splňuje všechny požadavky katedry parazitologie a proto ji plně doporučuji k obhajobě s hodnocením mezi stupni výborně a chvalitebně.

Ve Vestci, 4. září 2020

RNDr. Cyril Bařinka, PhD  
Laboratoř Strukturní Biologie  
Biotechnologický ústav AV ČR  
Průmyslová 595, Vestec, Česká republika  
telefon: +420-325-873-777  
e-mail: cyril.barinka@ibt.cas.cz