



Prof. RNDr. Karel Bezouška DSc.
Katedra biochemie
Univerzita Karlova Přírodovědecká fakulta
Hlavova 8
12840 Praha 2

Tel. +2-2195-1272 Fax.+2-2195-2331
E-mail: bezouska@biomed.cas.cz

Posudek oponenta na doktorskou disertační práci Alice Mášové (roz. Ciencialové) nazvanou „Studie imunitní odpovědi larev masařky *Sarcophaga bullata*“

Ve své doktorské disertační práci se kandidátka zabývala identifikací a charakterizací antimikrobiálně aktivních látek z hemolymfy larev masařky *Sarcophaga bullata*, analýzou změn exprese genů indukovaných v průběhu antimikrobiální imunitní odpovědi na genomové úrovni, a dále proteomickou analýzou a identifikací příslušných proteinových produktů v průběhu takové imunitní odpovědi. Jedná se o téma, které je nosné z hlediska základního poznání příslušných molekulárních mechanismů, ale je důležité i prakticky z hlediska možného použití izolovaných látek s antimikrobiálními účinky jako antibiotik.

Kandidátka si osvojila široké spektrum analytických, biochemických, genetických i biologických metodik, a v rámci široce pojaté studie získala řadu hodnotných poznatků, které jsou v předkládané disertaci detailně dokumentovány. Některé z těchto poznatků již byly též publikovány, a to formou článku v časopise *J. Pept. Sci.*, kde je kandidátka prvou autorkou, dále byl zpracován ještě rukopis pro časopis *BMC Genetics*, kde též kandidátka vystupuje (již pod svým novým příjmením) jako první autorka.. Hodnotných výsledků bylo ovšem získáno ještě mnohem více, a domnívám se, že například proteomické analýzy profilů indukovaných proteinů v průběhu imunitní odpovědi masařky by si určitě zasloužily samostatnou publikaci, například v některém z proteomických časopisů, kterých je k dispozici stále vzrůstající množství. Vzhledem k tomu, že větší část práce již prošla nebo prochází náročným recenzním řízením, je kvalita získaných výsledků nesporná. Ve svém dalším posudku se proto omezím pouze na některé drobnější připomínky formální povahy, a dále na dotazy ke kandidátce.

Po formální stránce je práce vypracována velmi pečlivě, velmi jsem ocenil například používání správných českých názvů jednotlivých popisovaných organismů vedle názvů latinských. U rukopisu druhé publikace zapoměla kandidátka uvést v práci obrázky, což působí při jejím studiu poněkud rušivě. Práce s literaturou je velmi pečlivá, i když občas není literatura uváděna jednotným způsobem (například str. 100). U obrázků 6 až 8 bych doporučoval větší měřítko a kvalitnější grafiku, v předloženém „muším“ provedení se poněkud ztrácejí i některé základní rysy těchto struktur. V seznamu chemikálií by měla být uvedena jejich čistota, proteinové barvivo se správně nazývá Coomassie **Brilliant Blue**.

Ke kandidátce a její práci mám následující dotazy:

1. Z obr. 3 vyplývá, že jeden z proteinů uvolňovaných plasmocyty se označuje jako hemolektin. Je tento lektin blíže charakterizován, resp. je něco známo o jeho schopnosti vázat sacharidy?
2. Na obr. 4 se popisuje tzv. peptidoglycan recognition protein. Je něco bližšího známo o způsobu rozpoznání β -1,3-glukanových sekvencí tímto proteinem?
3. Na str. 24 mne zaujala možnost translokace antimikrobiálních peptidů přes membránu bez narušení její struktury. Je něco více známo o molekulárním mechanismu?

4. Uvádíte podrobně řadu detailů o genech kodujících antimikrobní peptidy. Zajímalo by mne však, jakým způsobem probíhá jejich biosyntéza. Obsahují například signální peptid, prosequenci, nebo jsou produkovány ve formě polyproteinových prekursorů?
5. V metodické části jsem ne úplně rozuměl větě „byly použity larvy, které ukončily období žíru, a vstoupily do období toulavého chování“. Můžete vysvětlit?
6. Isolace hemocytů (str. 43) je založena na jednoduché centrifugami a promytí. Jedná se o homogenní buněčný preparát, nebo je složen z několika typů buněk?
7. Sekvence S4 peptidu na str. 66 obsahuje vysoké procento histidylových zbytků. Je něco známo o schopnosti tohoto peptidu koordinovat ionty těžkých kovů?

Závěrem lze konstatovat, že předložená doktorská práce Alice Mášové je velmi kvalitní, a splňuje veškeré nároky kladené na doktorské práce obhajované u oborové rady biochemie. Proto plně **doporučuji její přijetí k obhajobě a dalšímu řízení**. Kandidátce přeji mnoho štěstí do dalšího osobního i vědeckého života.

V Praze dne 11. srpna 2008

Prof. RNDr. Karel Bezouška DSc.