

Metabolismus železa u *Naegleria gruberi*

Autor: Bc. Dominik Arbon
Oponent: Mgr. Matyáš Krijt

Předložená diplomová práce splňuje svým rozsahem i obsahem předpokládaná kritéria. Pan Bc. Arbon se věnoval studiu metabolismu železa u nepatogenního prvoka *N. gruberi*, který je využíván jako laboratorní model pro patogenní *N. fowleri*. Literární přehled je sepsán přehledně a pochopitelně stejně jako ostatní kapitoly týkající se materiálů, použitých metod, výsledků práce a diskuze. V případě kapitoly č. 3 Cíle práce bych pro příště doporučil vhodnější volbu pořadí vytyčených cílů, která by korespondovala s řazením výsledků. To ovšem nic nemění na tom, že všechny cíle práce byly splněny. Dále bych chtěl vyzdvihnout široké spektrum použitých metod a technik, které mohou být velmi užitečné pro budoucí uplatnění a řešení dalších projektů. Na studovanou problematiku je nahlíženo skrz bioinformatická data, molekulárně biologické techniky jmenovitě: PCR, práce s bakteriálními kulturami včetně transformace DNA a izolace proteinů, dále pomocí elektroforézy a western blotu, fluorescenční mikroskopie, enzymatických esejí a v neposlední řadě analytickou technikou kapalinové chromatografie spojené s hmotnostní detekcí. Získané výsledky podrobně popisují metabolické chování *N. gruberi* v podmínkách s odlišnou dostupností iontů železa z pohledu metabolomiky a enzymu alkoholdehydrogenázy, jejíž vlastnosti a buněčná distribuce jsou dále detailně popsány. Přidanou hodnotou je příprava specifické protilátky pro detekci alkoholdehydrogenázy *N. gruberi* a jejím příbuzným druhům. V diskuzi anebo závěru bych ocenil delší komentář věnovaný aplikovatelnosti získaných výsledků na patogenní *N. fowleri*. V souhrnu hodnotím práci jako precizně provedenou a jednoznačně ji doporučuji k obhajobě s navrhovanou známkou 1.

Doplňující otázky:

- 1) V literárním přehledu uvádíte, že *N. gruberi* obsahuje geny vyskytující se u anaerobních organismů. Jakou předpokládáte změnu v metabolismu *N. gruberi* v anaerobním prostředí? Poskytuje vybavení Vaší laboratoře možnost kultivace v anaerobním prostředí případně podmínkách simulující lidský mozek?
- 2) Který výsledek považujete za nejvhodnější pro další studium a hledání terapeutického cíle u *N. fowleri*?
- 3) Jakou alternativní metodu/techniku by bylo možné použít pro experimenty s alkoholdehydrogenázou, pokud by selhala připravovaná protilátka i vizualizace pomocí fluorescenční mikroskopie?

V Praze dne 25.5.2018