

## Školitelský posudek na magisterskou diplomovou práci Bc. Terézie Perháčové „Katepsíny L cercárií *Diplostomum pseudospathaceum*“

Cysteinové peptidázy, mezi nimi i katepsiny L, mají důležité role v nejrůznějších životních dějích založených na proteolýze. U motolic jsou to mj. průnik do hostitele a migrace tkáněmi, trávení potravy, interakce s imunitním systémem hostitele ve prospěch parazita... U cercárií motolice *D. pseudospathaceum* byla již dříve nalezena aktivita cysteinových peptidáz, izolován a proteomicky identifikován katepsin typu L, který se jevil jako majoritní protein v homogenátu cercárií, avšak nebyl dosud blíže charakterizován. Jeho podrobná biochemická charakterizace a lokalizace v těle parazita byly původním zadáním této diplomové práce.

Tereza již během několika úvodních pokusů o purifikaci, charakterizaci pH optima a imunohistochemickou lokalizaci zjistila, že se nejspíše jedná o směs několika katepsinů L s různými biochemickými charakteristikami. To bylo později potvrzeno i proteomickými metodami. V té situaci bylo bezpředmětné provádět další biochemickou charakterizaci, neboť proteiny byly kopurifikovány v jednotlivých frakcích po FPLC na iontoměničích. Pustila se tedy do molekulární práce a podařilo se jí klonovat tři různé geny kódující tyto enzymy. Zatím jeden z nich se jí podařilo exprimovat v rekombinantní formě v heterologním systému, v kvasinkách *Pichia pastoris*. Z časových důvodů však již nedošlo k optimalizaci purifikačních podmínek a biochemické charakterizaci.

K průběhu dvouleté práce mám spíše pozitivní poznámky. Tereza dokáže v laboratoři pracovat velice samostatně, popř. aktivně konzultovat a řešit problémy s experimenty se svými kolegy. O pokusech přemýšlí a prokázala schopnost účelně modifikovat a optimalizovat metodiky. Jako školitel jsem nebyl nucen do práce příliš zasahovat, spíše jsem byl často mile překvapen novými výsledky. I proto bych býval možná uvítal častější komunikaci ze strany Terezie.

Rovněž vznik samotné diplomové práce neprovázely větší problémy. Jedinou velkou výtkou vůči finální podobě práce je množství gramatických chyb a překlepů v textu, které jsou zjevné i tomu, pro něž slovenština není mateřským jazykem, a na které jsem průběžně při připomínkování jednotlivých částí práce upozorňoval. Bohužel, zřejmě z časových důvodů jich v textu zůstalo množství znatelně větší než obvyklé. Není mi jasné, jak jich lze takové množství vůbec při psaní generovat. Jinak práce ani při svém vzniku netrpěla přílišnými věcnými nedostatky a většinu těch menších se podařilo odstranit. Z faktického hlediska ji považuji za zdařilou. Podrobnější kritické zhodnocení nechávám na oponentovi.

Závěrem konstatuji, že přes některé výhrady zejména formálního charakteru jednoznačně doporučuji předloženou diplomovou práci Terézie Perháčové k obhajobě jako podklad pro získání magisterského titulu.

Dne 14. 9. 2015

RNDr. Libor Mikeš, Ph.D.