# Školitelský posudek na magisterskou diplomovou práci Bc. Karolíny Skipalové „Antikoagulační faktory a příjem krve u monogeneí čeledi Diplozoidae“

Antikoagulační faktory hrají důležitou úlohu při příjmu krve hematofágními organismy. Vzhledem k tomu, že neexistují vůbec žádné informace o těchto molekulách u krevsajících monogeneí, byly hlavními cíli předkládané práce 1) biochemické stanovení inhibičních aktivit vůči vybraným faktorům koagulační dráhy v homogenátech a exkrečně/sekrečních produktech dvou zástupců čeledi Diplozoidae, 2) vyhodnocení přítomnosti transkriptů kódujících potenciální antikoagulanty ve dvou transkriptomech *Eudiplozoon nipponicum* a částečná bioinformatická analýza a anotace těchto proteinů a 3) klonování vybraných genů kódujících proteiny s Kunitz doménou, jejich exprese v heterologním systému a částečná biochemická a funkční charakterizace rekombinantních proteinů.

Cíle práce se podařilo splnit pouze částečně. Bohužel, nebylo to pouze vinou nepředvídatelných objektivních nesnází, které běžně doprovázejí každou experimentální práci. Karolína k nám do týmu nastoupila před třemi roky jako magisterská studentka, předtím již pod mým vedením vypracovala a obhájila bakalářskou práci. Její start v prvním roce nebyl příliš horlivý, proto se rozhodla prodloužit si mgr. studium o jeden rok. Přestože se její výkon a nasazení ve druhém roce znatelně zlepšily, musím konstatovat, že jistá roztěkanost, liknavost a dle mého názoru nedostatečný a vágní přístup a zájem o širší zvládnutí a pochopení problematiky vedly k chybám a poté k výsledkům, které neodpovídají možnostem, které studentka měla. To se projevilo i v závěru experimentální práce, kdy sledem několika zbytečných chyb došlo k tomu, že se nepodařilo získat ani jeden z kýžených proteinů (vyschnutí „nezálohované“ plotny s kvasinkami produkujícími rekombinantní Kunitz doménu, pěstování bakteriální kontaminace místo kvasinkových kolonií, kontaminace vlastních ploten kvasinkami produkujícími jiný protein ...)

Vznik samotné diplomové práce byl bohužel poznamenán nedostatkem konzultací se školitelem, evidentně z časových důvodů. Na finální podobě práce se značně podepsalo, že jsem před odevzdáním neměl možnost ani jednou přečíst některé části, které považuji za nejdůležitější – část výsledků, diskusi a abstrakt – tyto kapitoly jsem obdržel až den před odevzdáním, kdy už nebyla šance na některé zásadní opravy (formální i věcné), které by si zasluhovaly (např. interpretace výsledků měření inhibičních aktivit, věcně chybné popisky obrázků atp.). Od začátku jsem při připomínkování částí draftu, které se ke mně včas dostaly, upozorňoval na množství gramatických chyb – bohužel značná část přesahující obvyklou míru jich v textu zůstala. V práci s citacemi jsem rovněž zaznamenal určité nedostatky. Podrobnější zhodnocení práce ponechávám oponentovi, musím však konstatovat, že s finální podobou některých částí nejsem zdaleka spokojen.

Abych pouze nekritizoval: za podařenou část práce považuji literární úvod, který čtenáře poměrně čtivě a logicky uvádí do problematiky spojené s fenoménem hematofágie, s fungováním koagulační kaskády a se skupinami proteinů, které se u parazitů podílejí na inhibici faktorů zapojených do koagulace krve a tím narušení hemostázy. Část „metodika“ je podrobně rozepsána, experimenty jsou dle popisů reprodukovatelné. Narozdíl od experimentálních výsledků považuji za poměrně zdařilou bioinformatickou část práce, i když interpretace výsledků trpí některými nepřesnostmi. Diskuse sice obsahuje několik zavádějících vysvětlení, ale jinak je přiměřená výsledkům, poměrně čtivá a věcná.

Závěrem konstatuji, že přestože studentka z různých důvodů nevyužila potenciálu, který poskytovalo zadání, a přes nezanedbatelné výhrady k průběhu i finální podobě práce, doporučuji předloženou diplomovou práci Karolíny Skipalové k obhajobě jako podklad pro získání magisterského titulu.

Dne 14. 9. 2015 RNDr. Libor Mikeš, Ph.D.