

Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci Zuzany Hůzové

Zuzana Hůzová předkládá k obhajobě diplomovou práci na téma 'Glykosylace, ultrastruktura a antigeny povrchu larev motolic'. Diplomová práce má 99 stran, je bohatě ilustrovaná 63 velmi kvalitními černobílými a barevnými obrázky a doplněna 12 přehlednými tabulkami. Po formální, a hned v úvodu mohu říci, i obsahové stránce se jedná o velmi zdařilou práci, přičemž na tomto konstatování nemohou nic změnit ani některá kritické připomínky/poznámky v následující části mého hodnocení. Diplomová práce byla vypracována pod vedením Dr. Libora Mikeše, jehož biochemicky orientované projekty jsou tradičně zárukou vysoké kvality, jakkoliv motolice a jejich vývojová stádia jsou značně komplikovaným experimentálním materiálem, a to zejména s ohledem k potřebné standardnosti a reprodukovatelnosti biochemických či funkčně-morfologických analýz. V následující části se budu věnovat konkrétně jednotlivým kapitolám/oddílům magisterské diplomové práce.

Ad/ Úvod: Je vlastně stručnou jednostránkovou předmluvou k seznámení čtenáře s motolicemi a jejich interakcemi s prostředím během životního cyklu a s důrazem na význam tegumentu a glykokalyxu. Autorka zde také připomíná, že ve středu zájmu diplomního projektu byly zejména dva druhy motolic, *Diplostomum pseudospathaceum* a *Sanguinicola inermis*, pro které je typické využití krevního řečiště k migraci vnitřním prostředím rybiho hostitele. Z úvodní předmluvy také vyplývá význam studia glykanů a glykokonjugátů na povrchu motolic resp. jejich vývojových stádií.

Ad/ Literární přehled: Autorka diplomové práce sestavila zdařilý literární přehled, ve kterém zohlednila nejrůznější aspekty tématického zadání diplomové práce. Podala potřebný přehled o biologii a strukturních vlastnostech povrchu motolic, struktuře, ultrastrukturu a funkci tegumentu, cercáriích a jejich další transformaci v časovém profilu. Potřebnou pozornost věnovala autorka textu vlastnímu glykokalyxu a změnám v glykosylaci povrchu motolic resp. jejich vývojových stádií. Na příkladech savčích i ptačích schistosom doložila dostupné literární údaje o povrchových sacharidových determinantách vázajících značené lektiny se známou vazebnou specifitou. Afinitní sondy lektinového typu jsou také hlavním metodickým nástrojem, který autorka v nejrůznějším technickém uspořádání ve své práci využila. Právě proto zřejmě cítila potřebu věnovat se hned na začátku literárního přehledu problematice lektinů obecně, jejich biochemickým vlastnostem, dělení do skupin a podskupin, ale také jejich výskytem a biologickými funkcemi. Přestože jsou tyto odstavce zdařilým a výstižným textem, dovoluji si namítnout, že autorka se měla mnohem více zaměřit na využití lektinů jako nástrojů/afinitních sond ke studiu glykosylace resp. mapování glykanů a glykokonjugátů v biologii. V rešeršní části práce rovněž postrádám část věnovanou mechanismům glykosylace z obecného hlediska i specificky u motolic resp. parazitických červů s důrazem na očekávané zvláštnosti (např. N-/O-typy glykanů, antenální členění potenciálních receptorových struktur, zvláštností u parazitických červů atd.).

Pro orientaci v textu je poněkud nešťastné, že autorka ukryla seznam zkratk včetně tabulkového přehledu velkého množství obligátně používaných zkratk pro lektiny (většinou komerčně dostupné preparáty) až do kapitoly 3. Materiál a metodika, a navíc to zapoměla uvést v obsahu. Práce, která je tak bohatá na používané zkratky by si zasloužila předřazení jejich úplného seznamu, včetně např. zkratk pro sacharidy, někde na začátku spisu. Postrádám také uvedení původu lektinových preparátů, ale nakonec i jiných v práci použitých biochemikálií. Práce je napsána pečlivě a díky úpravnosti působí dojmem veskrze solidním, a nejen působí. Je zřejmé, že pečlivost autorky měla svůj počátek už v laboratoři, kontrolní

experimenty, jakož i kritické hodnocení pečlivě získaných a dokumentovaných výsledků jsou toho nejlepším důkazem. Byl bych však špatný oponent, kdybych autorku neupozornil na chyby v textu či formulačně nešťastná vyjádření. V celé práci se vyskytuje anglicismus ultrastrukturální místo ultrastrukturní, snad jen na str. 78 se autorka zmyšlila a použila výraz hezky česky☺, několikrát lze najít gelatina místo želatina, v češtině je manosa s jedním n, cercarie s jedním r (str. 74), nepěkně působí termín 'ligand blot' (str. 74), pokud není zbylí a je třeba uvést sousloví anglicky jako obvyklý 'terminus technicus', potom doporučuji raději v uvozovkách (str. 27 ...také 'irradiation-associated vaccine antigen'). Nepěkné formulační obraty: str. 27: ...jak hypotetizuje Dvořák a kol., str. 41: ... larvy byly postfixovány..., str. 28: ... v přirozeném a abnormálním hostiteli... V každém případě však musím autorku pochválit za důsledné a správné zacházení s pravidly pro psaní chemických/biochemických pojmů, enzymy, sacharidy atd.

Ad/ Cíle: Jsou jasně definovány do 4 tématických okruhů, nicméně jeví se mně dosti odlišné resp. vhodné pro 3 samostatné diplomové práce: (1) Srovnávací studie *D. pseudospathaceum* a *S. inermis*, (2) Sacharidové epitopy u cercarií r. *Echistoma* a *Trichobilharzia*, (3) Imunochemická analýza protilátkové odpovědi u infekcí trichobilharziemi. Autorka pracovalo velmi pilně a získala v těchto odlišných tématech velké množství výsledků, nicméně ne vždy s potřebnými závěry.

Ad/ Materiál a metodika: Na rozdíl od použitých chemikálií jsou experimentální materiál motolic i jednotlivé techniky popsány dostatečně vyjma snad jediného případu, a tím je elektroforéza v polyakrylovém gelu, není zřejmé ani z postupu přípravy vzorků pro elfo ani z vlastního návodu o jaké uspořádání se jednalo, zda o nativní či denaturační podmínky atd.

Ad/ Výsledky a diskuse: Obě hlavní kapitoly jsou napsány čtivě se snahou o přehlednost výsledků. Tabulkové přehledy a velmi zdařilé obrazové tabule přímo v tisku k přehlednosti rovněž výrazně přispívají. Považuji získané výsledky za zdroj cenných údajů z mapovací fáze glykanů/glykokonjugátů u motolic, které umožní rozpracovat další slibná témata. A věřím, že už teď jsou některé pasáže diplomové práce publikovatelné.

Autorce bych chtěl položit následující otázky: *Jak si vysvětluje, že se jí nepodařilo vyblokovat vazbu lektinů JAK a PHA-E s cercariemi E. spiniferum; jaký je názor autorky na možnost výskytu kyseliny sialové v povrchových strukturách cercarií; jsou známy z literatury nějaké receptorové struktury na povrchu vývojových stádií motolic, např. receptor Fc, receptor pro složky komplementu; Toll-like receptor nebo nějaké 'pathogen-associated molecules'; jak si autorka vysvětluje, že některé enzymy energetického metabolismu/glykolýzy jsou umístěny na povrchu parazitických červů; jaký je názor autorky na použití specifických glykosidas (např. endoglykosidasy F, H atd.) k dalšímu studiu povrchových glykanů/glykokonjugátů, na co autorka může usuzovat z průkazu zbytků N-acetyl-galaktosaminu v povrchových strukturách?*

Závěrečné hodnocení:

Zuzana Hůzová předložila k obhajobě velmi kvalitní a zdařilou diplomovou práci, a tím prokázala, že je schopná se vypořádat úspěšně s náročným zadáním, které vyžadovalo značnou invenci při vlastní experimentální realizaci. Zmíněné připomínky nikterak nesnižují kvalitu její diplomové práce a proto jednoznačně doporučuji práci Zuzany Hůzové k obhajobě jako magisterskou diplomovou práci.

V Českých Budějovicích dne 14. května 2006

Prof. RNDr. Libor Grubhoffer. CSc.

