



Dr Michal Žurovec
Entomologický ústav AV ČR
Branišovská 31
370 05 České Budějovice
Tel: 38777 5283
E-mail: zurovec@entu.cas.cz

Č. Budějovice, 25. května 2007

Posudek školitele na magisterskou práci Vlastimila Tichého: „Charakterizace signální dráhy adenosinu v buňkách imaginálních terčků *Drosophila melanogaster*”.

Téma magisterské práce Vlastimila Tichého vychází z projektu naší laboratoře věnovanému charakterizaci účinku adenosinu na buňky *D. melanogaster*. Před nedávnem se nám podařilo charakterizovat drozofilí adenosinový receptor a prokázat, že rekombinantní verze tohoto receptoru je po expresi v křeččích buňkách schopna stimulovat produkci cAMP a uvolnění Ca^{2+} z endoplazmatického retikula. Kromě toho jsme dosud nedokázali vysvětlit mechanismus toxicity extracelulárního adenosinu, který postihuje určité typy buněk *in vitro* ani mechanismus letálního účinku deficiencie adenosin deaminázy *ADGF-A* v drozofile.

Ve své práci se Vlastik zaměřil na hledání korelace mezi aktivitou adenosinového receptoru, adenosinového transporteru, koncentrací extracelulárního adenosinu a životaschopností buněk. Jeho hlavním nástrojem byla řada stabilních transgenních buněčných linií, které exprimovaly rekombinantní reportérové konstrukty a konstrukty modifikující expresi AdoR a adenosinového transporteru. Projekt vyžadoval obrovské množství práce, zejména bylo nutno připravit celou řadu rekombinantních konstruktů v expresních hmyzích vektorech, selektovat příslušné buněčné linie a zavést několik klíčových testů pro měření množství vápníku v cytoplazmě, odpovědi cAMP a testování životaschopnosti buněk. Zejména zavedení měření vápníku představuje významný průlom v práci naší laboratoře. Podařilo se prokázat, že adenosin v buňkách C18+ stimuluje jak produkci cAMP tak i uvolnění Ca^{2+} . Z výsledků rovněž vyplývá, že na cytotoxicitě zvýšené koncentrace extracelulárního adenosinu se podílí jak adenosinový transportér, tak i receptor. Práce otevřela další směr výzkumu a zavedené metody s reportérovými konstrukty umožňují začít další projekty, včetně testování účinku nových analogů adenosinu a testování jiných hormonů na buňkách *in vitro*.

Předkládaná magisterská práce je výsledkem poctivého úsilí, nesmírné trpělivosti a obrovského pracovního nasazení. Z jejího perfekcionistaického zpracování je zřejmé, že Vlastik nejen zvládl velké množství potřebných metod a práce, ale má o studovanou problematiku nevšední zájem. Projekt splňuje všechny nároky kladené na magisterské práce a doporučuji ji k obhajobě

Michal Žurovec

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'M. Žurovec', followed by a long, horizontal, wavy line that extends to the right.