

Hodnocení školitele:

Magisterská diplomová práce Bc. Jany Kadlecové: „**Charakterizace a funkce transferinu z klíštěte *Ixodes ricinus***“

Jana Kadlecová začala v naší laboratoři pracovat na podzim 2008 pod vedením tehdejšího doktoranda Ondřeje Hajduška na tématu proteinů metabolismu železa v klíštěti. Tehdy už jsme věděli, že kromě intracelulárního a sekretovaného feritinu a proteinu regulující železo (IRP1) je v genomu příbuzného klíštěte *Ixodes scapularis* i gen podobný transferinu. Naším cílem bylo zjistit, zda a jakým způsobem se klíštěcí transferin podílí na přenosu železa v klíštěti. Pod dohledem Ondřeje Hajduška dělala Jana relativně rychlé pokroky, brzy získala celou sekvenci orthologu transferinu z *I. ricinus* a připravila jeho rekombinantní expresi v *E. coli*. Tento poměrně velký protein o velikosti 90 kDa však nebyl po refoldingu dobře rozpustný a z nějakého důvodu se rozpadal již během exprese. Přesto jsme tento materiál použili pro imunizaci králíka a získali protilátky, které sice dobře reagovaly s původním rekombinantním antigenem, ale nebyly jednoznačně schopné detegovat autentický transferin v homogenizovaných tkáních – zda to bylo špatnou kvalitou protilátek nebo nízkou hladinou transferinu v testovaných tkáních, dodnes nevíme. Jana se spolu s Ondřejem pokusila provést knockdown transferinu pomocí RNA interference, ale vypnutí genu nebylo spolehlivě prokázáno a rovněž se nijak neprojevil kýžený fenotyp v dopadu na schopnost klíšťat nasát se na hostiteli. Po odchodu Ondřeje na Strasbourgu se Jana pokoušela pod dohledem Lenky Grunclové ještě připravit rekombinantní transferin v bakulovirovém systému, ale to se jim z nějakého důvodu nepodařilo. Zřejmě série dílčích neúspěchů po slibném začátku (či jiné pohnutky) Janu dost demotivovalo, takže se v laboratoři po minulé dva semestry objevovala poměrně sporadicky. Mě se bohužel nepovedlo ji rozpohybovat k původnímu výkonu a zaujetí. Je to škoda, protože Jana je bezpochyby inteligentní děvče a pokud je dostatečně motivovaná, tak jí experimentální práce evidentně baví. Nakonec jsem byl rád, že se Janě přes časový stres, který v jejím případě byl úplně zbytečný, podařilo velmi samostatně a poměrně kvalitně sepsat tuto diplomovou práci, která podle mého názoru obstojí i před zvýšenými kritérii Katedry molekulární biologie PřF JU. Její diplomová práce snad úplně v šuplíku neskončí. Chtěli bychom po návratu Ondřeje problematiku klíštěcího transferinu dotáhnout do publikovatelné podoby, zejména když už tušíme podle nedávno publikované vynikající práce o transferinu 2 v drosophile, jaká by mohla být funkce tohoto proteinu a na jaké fenotypy se po úspěšném RNAi zaměřit.

Diplomovou práci Jany Kadlecové doporučuji k obhajobě a přeju jí, aby našla pěkné zaměstnání, kde dobře uplatní to, co se na této škole i v naší laboratoři naučila.

V Českých Budějovicích, 20.1. 2012

