



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

Č. Budějovice, 21. února 2013

**Posudek školitele na doktorandskou práci Sureshe Sajwana:  
“ Gene targeting in Silkworm (*Bombyx mori*) by Engineered  
Endonucleases“**

Doktorandská práce Sureshe Sajwana velmi významným způsobem obohatila škálu námi používaných metod. Před několika léty se objevila možnost modifikovat DNA-vazebnou doménu transkripčních faktorů se zinkovými prsty a získat nespecifickou nukleázovou doménu z restrikčního enzymu FokI jež mohly být fúzovány do podoby umělého enzymu. Tento krok způsobil velký předěl v moderní biologii a zahájil éru takzvaných „editací genomů“. Převratný rozvoj a množství publikací o umělých nukleázách v posledních dvou letech svědčí o klíčové důležitosti této technologie pro biologický výzkum i aplikace. Umělé nukleázy nacházejí stále větší uplatnění v ex-vivo genových terapiích a již se provádí dokonce klinické pokusy i s léčbou AIDS.

Úkolem Sureshe Sajwana bylo zavést metodu cílové mutageneze u bource morušového. Suresh nejprve testoval použití ZFN pro cílovou mutagenezi a zaváděl selekci aktivních endonukleáz v jednoduchém kvasinkovém modelu. Podařilo se mu vyvinout metodu jakési in-vivo evoluce těchto enzymů v kvasinkách a po jejich charakterizaci pak použít nejaktivnější nukleázy pro injikace do hmyzu. Mezitím však skupiny Daniela Voytase a Jense Bocha objevily TAL-efektorové transkripční faktory bakterií *Xanthomonas*, které skýtaly výhodu velmi širokého rozsahu cílových sekvencí a

Suresh se rozhodl testovat i tuto variantu umělých nukleáz. TAL-efektorové nukleázy se skutečně ukázaly jako velmi jednoduché a vhodné pro širokou aplikaci. Část Sureshových výsledků byla zveřejněna ve dvou článcích z roku 2010 a 2013 (Insect Biochem. Mol. Biol.) a rukopis třetí práce je nyní připraven do tisku. Naše práce z roku 2010 byla první úspěšným pokusem s použitím umělých nukleáz mimo drozofilu.

- Suresh je, pracovitý, vysoce motivovaný a schopný student, který velmi dobře zvládl adaptaci na české prostředí a udělal kus pořádné práce. Během svého Ph.D. studia absolvoval 4 zahraniční stáže (2 USA a 2 v Japonsku) ve třech renomovaných laboratořích (Prof. K. Arrora – UC Irvine, USA, Dr. D. Carroll – Univ. Salt Lake City, USA a Dr. T. Tamura a Dr. Y. Takasu – Tsukuba, Japonsko).

Z předložených výsledků je zřejmé, že splňuje nároky kladené na kvalitní doktorské práce, doporučuji ji k obhajobě a do další práce přeji mnoho úspěchů.



Michal Žurovec