



BIOLOGY CENTRE ASCR

Institute of Entomology

address: Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

IBAN – CZ22 0710 0000 0000 0552 7231 | SWIFT CODE – CNBACZPP | VAT No.: CZ60077344

phone: +420 387 775 211 | +420 385 310 354 | www.entu.cas.cz | e-mail: entu@entu.cas.cz

České Budějovice, 16. května 2017

Posudek školitele na magisterskou práci Lenky Rouhové: „Příprava rekombinantních proteinů DS47 a IDGF3 v bakulovirovém expresním systému a jejich funkční testy na buňkách *Drosophila melanogaster in vitro*.“

Téma magisterské práce Lenky Rouhové vychází z našeho dlouhodobého projektu věnovanému výzkumu účinku růstových faktorů rodiny IDGF na buňky *D. melanogaster*. Před nedávnem se nám podařilo dokončit práci o účincích proteinu IDGF2 na buněčnou kulturu z imaginálních terčků *D. melanogaster*, na které je Lenka spoluautorkou a kde v rámci své bakalářské práce významně přispěla ověřováním změn transkripce IDGF2-inducibilních genů (*Brož V., Kučerová L., Rouhová L., Fleischmannová J., Strnad H., Bryant P., Žurovec M. (2017) Drosophila imaginal disc growth factor 2 is a trophic factor involved in energy balance, detoxification, and innate immunity. Scientific Reports 7 : article number 43273*). Proteiny IDGF jsou velmi zvláštními růstovými faktory s podobnými účinky jako obratlovcí sérové a chitinázové proteiny. Zdá se, že většina, možná všechny proteiny IDGF mají homeostatické, detoxifikační a růstové účinky a do budoucna se nabízí jejich využití jako důležitých součástí tkáňových a orgánových hmyzích in vitro kultur.

V návaznosti na výsledky s IDGF2 Lenka připravila expresi dalších dvou členů této rodiny, DS47 a IDGF3, v bakulovirovém expresním systému. Použití tohoto expresního systému vyžaduje značnou zkušenost s klonováním, prací s velkými bakteriálními klony a především erudici v práci s tkáňovými kulturami motýlů. Kritický je zejména odhad titru rekombinantního bakuloviru a optimalizace podmínek pro maximální výtěžek proteinů. Ve druhé části práce Lenka ověřila funkčnost rekombinantních proteinů na drozofilí buněčné linii Cl.8+. Již tyto předběžné výsledky ukazují, že vliv proteinu IDGF3 na buňky je podobný jako IDGF2, ale jeho účinnost se zdá být mnohem vyšší. Je překvapením, že i podobný vliv na drozofilí buňky jako IDGF2 a IDGF3 má i



protein ds47. Podrobné srovnání účinků těchto proteinů, včetně schopností vázat se ke galaktózovým sacharidům přinese zásadní poznatky o této důležité proteinové rodině.

Lenka je ideální studentka schopná zvládat několik projektů najednou. Kromě popsané práce Lenka rovněž připravila mouchy exprimující konstrukty IDGF3 s odstraněným glykosylačním místem nebo rekombinantní mouchy s expresí myšího galektinu 4 (váže podobnou cukernou složku jako IDGF2), které budou dalšími důležitými součástmi připravované studie o mechanismu účinku proteinu IDGF3.

Ve své práci na rozsáhlém projektu Lenka zvládla velké množství metod molekulární a buněčné biologie, včetně práce s *D. melanogaster*, PCR, klonování, bakteriálních rekombinací, titrování bakulovirů, exprese rekombinantních proteinů v buňkách i mouchách *in vivo*, cytometrických testů atd. Chtěl bych Lence poděkovat za její houževnatost, schopnost překonat smůlu a hledat nová řešení v množství negativních výsledků, které výzkum občas přináší.

Lenka je velmi skromný a tichý člověk. V práci je samostatná, pečlivá a cílevědomá, velmi rychle zvládá nové metody i teoretické informace a má výborný přehled o problematice. Co je rovněž důležité, je oblíbená v kolektivu a ochotně pomáhá ostatním. Její práci doporučuji k obhajobě a jsem velmi rád, že se Lenka rozhodla pokračovat ve své práci v naší laboratoři v rámci doktorského studia.

Michal Žurovec