

## Oponentský posudek na bakalářskou práci Daniely Šantové

Téma práce: Vliv ztráty a nadprodukce koaktivátoru MBF1 na odolnost larev *Drosophila melanogaster* vůči poranění

Posudek vypracoval:

Mgr. Tomáš Doležal, Ph.D., Biologická fakulta JU v Českých Budějovicích

Cílem bakalářské práce Daniely Šantové bylo otestovat, zda se transkripční koaktivátor MBF1 účastní procesů hojení ran u larev drozofily. K tomu Daniela využila genetických nástrojů, které jsou u tohoto modelu k dispozici. Nejdříve si připravila linie much nesoucí buď nulovou mutaci genu MBF1 nebo nástroje pro jeho nadprodukcí a poté testovala přežívání larev po poranění.

Poznámky k předkládané práci:

1. Rád bych zdůraznil, že práce je velice pečlivě sepsána, s minimem chyb a jasným členěním. Velice pěkně je zpracován i úvod práce, kdy Daniela začíná s popisem drozofily jako modelového organismu. Tato část nese spíše charakter rešerše, což ale není u bakalářské práce na škodu a naopak to umožňuje člověku, který není blíže seznámen s používáním drozofily, lépe porozumět předkládané experimentální části.
2. Cíle práce jsou poměrně jasně definovány.
3. Metodická část poskytuje přesné a úplné informace o použitých technikách.
4. Prvním cílem bylo vytvoření rekombinantní linie *act-Gal4* a *UAS-MBF1* na chromosomu III. K selekci rekombinantů byl využit marker *mini-white*<sup>+</sup>, přičemž rekombinanti byli rozeznáváni podle intenzivnější barvy oka (2 kopie markeru). Tento způsob je sice standardní a poměrně spolehlivý, ale protože pro další experimenty bylo nutné mít jistotu, že mouchy skutečně nesou oba konstrukty, bylo by žádoucí ještě další ověření přítomnosti obou konstruktů. Bylo toto provedeno ještě nějakou další metodou (PCR?) mimo dále zmiňovaného western blottingu? Western blottingu na obrázcích 3 a 4 chybí kontroly, že všechny vzorky obsahovaly stejné celkové množství proteinů. Vzhledem k výsledkům blottingu ale není chybění kontrol a ověření zásadní – je málo pravděpodobné, že by se dosáhlo tohoto výsledku například nanesením nestejněho množství proteinů a tudíž jsou experimenty s nadprodukcí s největší pravděpodobností v pořádku. Přesto by bylo dobré dodržet dobrou experimentální praxi s použitím všech kontrol, zvláště když detekce MBF1 ve tkáních už nebyla tak jednoznačná, jako při western blottingu a konečný experiment (přežívání po poranění) neprokázal žádný rozdíl – z důvodu chybění konstruktů nebo skutečně nadprodukce MBF1 nemá žádný vliv?
5. Stejněho způsobu selekce much (na základě intenzivnější barvy oka) bylo použito u druhého křížení (str. 8), kdy bylo možné použít spolehlivější způsob za použití dvou různých balancerů třetího chromozomu, namísto dvou stejných (TM3) a vybírat mouchy dle intenzity barvy v oku. Opět není jasné, zda byla přítomnost obou konstruktů ověřena ještě jiným způsobem než použitím v ostrém, konečném experimentu. Pro konečný experiment byla navíc využita pouze linie z tohoto křížení (*arm-Gal4*; *UAS-MBF1*), která již nebyla tak přesvědčivá na western blottingu, jako *act-Gal4* *UAS-MBF1*. To umocňuje použití zmiňovaných ověření.

6. Obrázek č. 6 není příliš povedený. Za prvé je v práci uveden ve špatné kvalitě, díky čemuž není příliš jasné, na co se vlastně díváme. Ani popisek tomu příliš nepomůže. Pomoci by naopak mohly záběry s procházejícím světlem, aby byla jasná kontura tkání, zejména u mutantní varianty, kdy je prostě vidět jen černý čtverec.

7. Diskuze je stručná, ale adekvátní dosaženým výsledkům a poměrně dobře a jasně prezentována.

#### Celkové hodnocení:

Neodpustím si osobní dojem, i když získaný pouze na základě předložené psané formy - přece jen trochu postrádám větší nadšení pro věc a snahu rozšířit práci nad rámec zadaných úkolů a takřkajíc dotáhnout experimenty o kousek dále, na což jsme zvyklí u prací ze skupiny Doc. Marka Jindry. Tento dojem ovšem nemění nic na faktu, že po formální stránce byly cíle splněny a to pečlivým způsobem, stejně pečlivě je sepsána i práce a tudíž dobře splňuje veškeré požadavky, kladené na bakalářskou práci. Z tohoto důvodu jednoznačně doporučuji práci Daniely Šantové k přijetí.

V Českých Budějovicích, 25. ledna 2007



---

Mgr. Tomáš Doležal, Ph.D.