

Oponentský posudek na bakalářskou práci Nikolý Kudrnáčové: "Hledání rytmičnosti u larev mušky *Chymomyza costata* (Diptera: Drosophilidae)"

Předložená práce řeší některé dílčí otázky související s úlohou cirkadiálního systému v řízení larvální diapauzy u mušky *Chymomyza costata*. Molekulárně genetické studie školitele a jeho spolupracovníků ukázaly, že je příčinný vztah mezi cirkadiálním genem *timeless* a indukcí diapauzy. Předložená bakalářská práce řeší problém, zda u larev existuje také funkční cirkadiální systém, který se projevuje rytmy v aktivitě některých enzymů nebo transkripci genu, který řídí buněčný cyklus.

Práce je napsaná přehledně a svědčí o zvládnutí problematiky jak teoreticky, tak metodicky. Cíle práce jsou jasně definovány a byly splněny. Nebyl zjištěn rytmus v žádné sledované aktivitě. Byl však zjištěn významný rozdíl ve velikosti exprese genu buněčného cyklu, s podstatně sníženou expresí u diapauzních jedinců.

Mám několik dotazů a připomínek

(1) Kapitola diskuze trochu kontrastuje s jinak dobře napsanými ostatními kapitolami.

(a) Vzhledem k tomu, že byly analyzovány homogenáty celých larev, výsledky nemohou být interpretovány jednoznačně. Diskuze k tomuto problému však zcela chybí.

Příklady:

- Rytmus by mohl být zamaskován, pokud by oscilace v jednotlivých tkáních měly různou fázi.

- Autorka vznáší hypotézu, že vzhledem k absenci rytmu v některých fyziologických projevech by rytmus v transkripci *timeless* mohl sloužit k měření délky dne. Z diskuze však není jasné, kde byl rytmus v *timeless* pozorován (citovány nepublikované výsledky Košťála). Pokud by šlo o periferní tkáň, není pravděpodobné, že by *timeless* byl využíván pro měření délky dne, protože to je spíše vlastnost CNS. Naproti tomu rytmus *timeless* v CNS by mohl řídit rytmus v chování a nemusel by být nutně propojen s biochemickou aktivitou periferních tkání. Periferní oscilátory hmyzu jsou podle publikovaných prací řízeny světlem přímo. V této souvislosti se nabízí otázka, zda u dospělých mušek *Chymomyza costata*, kde existuje rytmus v kladení a lokomoci, nechybí rytmus v biochemických aktivitách, podobně jako u larev.

(b) Zastavení buněčného cyklu při vstupu do diapauzy je pravděpodobně proximálně řízeno hormonálně. V této souvislosti by bylo na místě zmínit, co je známo o hormonálním řízení larvální diapauzy.

(2) Proč byly larvy převáděny do diapauzních podmínek až 16. den, t.j. 3 dny po svlečení do 3. instaru (těsně před poklesem fotoperiodické citlivosti) a ne hned po svlečení do 3. instaru?

(3) Vzhledem k tomu, že množství proteinů bylo měřeno v den převodu larev (16. den) se vysvětlení, že pomalejší nárůst proteinů během dne je způsoben vstupem do diapauzy (str. 22), nezdá příliš pravděpodobné.

(4) Chybí vysvětlení proč pro stanovení enzymatické aktivity byly použity celé larvy, kdežto pro stanovení PCNA pouze přední části larev.

(5) Termín tRNA, který je zde zřejmě používán pro označení celkové RNA je matoucí, protože normálně se používá pro transferovou RNA, která přenáší aminokyseliny na ribosom.

Celkově hodnotím práci velmi kladně. Autorka zvládla řadu moderních metod biochemie a molekulární biologie a získala výsledky, které odpovídají zadání práce. Práce splňuje veškeré požadavky kladené na bakalářskou práci. Proto práci doporučuji k obhajobě a navrhuji hodnocení známkou výborná.

V Českých Budějovicích 24.5.2007



Magdalena Hodková

Biologické centrum AV ČR, v.v.i.
Entomologický ústav
Braníšovská 31
370 05 České Budějovice
Tel.: 38777 5253
<mailto:magda@entu.cas>