

Oponetský posudek na bakalářskou práci Silvie Fexové

Immunohistochemical localization of neuropeptides in the central nervous system of the mediterranean flour moth *Ephestia kuehniella*

Práce se zabývá imunohistochemickou lokalizací 7 hmyzích neuropeptidů v CNS zavíječe moučného s cílem zjistit jejich distribuci a posoudit, zda tato lokalizace i případné změny v jejich kvantitě podléhají cirkadiánním změnám. K dosažení těchto cílů autorka používá imunohistochemické metody na tenkých řezech i v celých orgánech (CNS) a studii doplňuje analýzou materiálu pomocí Western blottingu. Práce je doplněna řadou špičkových fotografií dokumentujících imunolokalizaci studovaných neuropeptidů v CNS a také fotografiemi blotů. Předkládaná práce má klasické členění na *Úvod, Materiál a metody, Výsledky, Diskuzi, Závěr* a *Literaturu*. Je psána srozumitelně vysoce kvalitní angličtinou.

V Úvodu autorka obsáhle shrnuje současné znalosti o mechanismu cirkadiánního řízení hmyzího organismu a velmi podrobně charakterizuje studované neurohormony. V kapitole Materiál a metodika jsou podrobně popsány jednotlivé metodiky, za jejichž použití bylo dosaženo uvedených výsledků. Ty jsou uvedeny v následující kapitole – zvláště v imunohistochemické části je jejich objem téměř neuvěřitelně rozsáhlý a kvalita zcela špičková, co si vysloužilo můj upřímný obdiv k odvedené práci. Výsledky jsou kriticky srovnávány s literárními údaji v Diskuzi a jsou shrnuty v krátkém Závěru.

K práci mám následující poznámky, dotazy a komentáře:

- není zcela jasné jaké bylo stáří používaného hmyzu. To může být včetně použitého pohlaví dosti zásadní pro studium cirkadiánních i jinak dlouhých změn v kvalitě i kvantitě studovaných neurohormonů (např. spojení s nástupem reprodukčního cyklu)

- proč byly zvoleny pro studium právě časy ZT 4 a 16? Bylo to spíše z praktického hlediska nebo to má i hlubší biologický význam? Používala autorka i obrácené fotoperiody nebo byly vzorky opravdu zpracovávány i v noci?

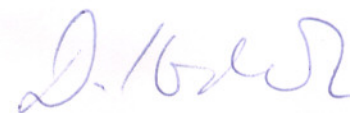
- jestli jsem pozorně četl, tak u žádné z použitých metodik není literární odkaz

- jsem přesvědčen, že pro sledování případných cirkadiánních kvantitativních změn by bylo vhodné zvolit nějakou exaktní metodu. Proto doporučuji např. ELISA, která by případné změny určila jednoznačně. Samozřejmě je vhodné použít také Western blotting, který hodně napoví o specifičnosti a cross-reaktivitě protilátek. Doporučuji použít také SDS-PAGE tris-glycinový systém s koncentrací gelu 20% (nebo i 25%?). Tento systém se mi na malé molekuly osvědčil lépe než tris-tricinový systém, se kterým mám špatné zkušenosti

- V Úvodu i Diskuzi se střídá 5- a 3-písmenné pojmenování hormonů. Je třeba to sladit – v poslední době se dává přednost 5-písmennému

Závěrem – autorka vypracovala vysoce kvalitní bakalářskou diplomovou práci, kterou doporučuji k obhajobě jako jeden z podkladů pro udělení bakalářského titulu. Zcela jednoznačně ji hodnotím „výborně“.

V Č. Budějovicích, 25.5. 2007



Dalibor Kodrlik (oponent)