

**Změny exprese genů kódujících iontové pumpy během chladové aklimace mušek**  
*Drosophila melanogaster* a *Chymomyza costata*.

studentka: Petra Šimůnková  
školitel: Vladimír Košťál

Studenti oboru "Biomedicínská laboratorní technika" by měli během své bakalářské práce: 1) prakticky zvládnout vybrané laboratorní techniky a metodiky a 2) seznámit se s rutinním provozem laboratoře a přispět k řešení konkrétního odborného problému. Troufám si tvrdit, že Petra Šimůnková naplnila oba cíle měrou neobvykle vysokou a vyjimečnou.

ad 1) Výčet použitých metod a přístrojových technik, se kterými se Petra seznámila, je skutečně dlouhý [*není nutno číst při obhajobě*: chov dvou druhů hmyzu, aklimace v různých teplotních režimech, pitvy larválních orgánů, izolace celkové RNA, reverzní transkripce a syntéza cDNA, ligace do plasmidu, transformace a kultivace kompetentních bakterií, PCR a purifikace produktů, elektroforéza na agarovém gelu, izolace plazmidové DNA, příprava sekvenční reakce, (vlastní sekvenování proběhlo formou služby), blasting, navržení oligonukleotidových primerů, kvantitativní real time PCR, evaluace dat].

Použité techniky jsou velmi náročné na čas a soustředění. Výsledek lze získat jen po zcela precizním provedení. Jednoznačným dokladem úspěšného zvládnutí celé baterie technik je získaná sekvence podjednotky Vha55 V-ATPázy *C. costata*. Kvantifikace transkripce se pak kvalitně podařila u vzorků připravených z centrální nervové soustavy larev.

ad 2) Petra získala velmi zajímavé předběžné výsledky, které naznačují, že u larev temperátní mušky *C. costata*, jež vykazují účinnou nízkoteplotní aklimaci, existuje také zřetelná transkripční odpověď na nízké teploty. Naproti tomu u larev tropické mušky *D. melanogaster*, s velmi omezenou schopností nízkoteplotní aklimace, je také transkripční odpověď nezřetelná. Relativní četnost transkriptů obou pump byla v CNS *C. costata* vyšší při teplotě 15°C než při teplotě 25 °C, což naznačuje kompenzaci funkce obou pump za nižší teploty. Při teplotě 5°C byl v CNS naopak pozorován úbytek relativní četnosti transkriptů obou pump, což spíše naznačuje útlum funkce. Teploty 25 a 15 °C umožňují pokračování v růstu a vývoji larev (podle fotoperiodických podmínek), zatímco teplota 5 °C vyvolává vstup do dormatního stavu (nezávisle na fotoperiodických podmínkách).

Petra pracovala nadstandardně svědomitě a přitom velmi rychle a efektivně (je třeba uvážit, že práce začala o prázdninách roku 2007 a kompletně tedy trvala necelý jeden rok!). Díky neobvyklému nasazení, zájmu a času strávenému v laboratoři odevzdává Petra práci, která rozhodně splňuje, a v mnohých ohledech jistě přesahuje, všechny formální i věcné požadavky na bakalářské práce. Použití angličtiny, i když ne bezchybné, si zaslouží zvláštní ocenění. Práci jednoznačně doporučuji jako kvalitní podklad k obhajobě.

V Českých Budějovicích  
Dne 14.5. 2008



Vladimír Košťál, školitel