



Přírodovědecká fakulta
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Branišovská 31, 37005 České Budějovice

Mgr. Tomáš Doležal, Ph.D. - Katedra molekulární biologie
tel. 387772229, E-mail: tomas.dolezal@prf.jcu.cz

Posudek na bakalářskou práci: Působení extracelulárního adenosinu na buňky *Drosophila melanogaster* (autor Hana Holá, 2009)

Cílem předložené bakalářské práce bylo zavést a otestovat metodu pro sledování odpovědi adenosinového receptoru na extracelulární adenosin a jeho analogy použitím buněk izolovaných z octomilky *Drosophila melanogaster*. Zavedení tohoto modelu by mělo velký praktický užitek (zejména kvůli zlevnění) při vývoji nových analogů adenosinu jako potenciálních léčiv. Rád bych hned na začátku konstatoval, že se autorce podařilo otestovat velmi slibný přístup a z tohoto pohledu byla její práce velice úspěšná. Zároveň bych dodal, že pro bakalářský projekt to znamenalo zvládnutí poměrně širokého spektra technik a velký objem vykonané experimentální práce.

Z formálního hlediska má sepsaná práce veškeré náležitosti i obvyklou strukturu a v porovnání s jinými bakalářskými pracemi je spíše rozsáhlejší. Úvod je podrobný a věnuje se všem podstatným oblastem, kterých se autorka ve své experimentální části dotkla. Autorka se sice nevyvarovala gramatických chyb a překlepů, ale není jich výrazně více, než bývá obvyklé. Konkrétní připomínky a dotazy jsou uvedeny dále. Cíle práce jsou jasně formulované. Sekce materiál a metody je dostatečně podrobná a mělo by být možné dle této sekce zopakovat v podstatě veškeré postupy. Výsledky opět obsahují vše podstatné, někdy bohužel v příliš zhuštěné podobě – dáno velkým množstvím různých experimentů, takže je to místy poněkud obtížné vstřebat. I když rozumím důvodům dát grafy 1 až 13 do přílohy (je jich hodně), zhoršuje bohužel toto rozhodnutí dále celkovou nepřehlednost ve výsledkové části (grafy 14.-16. jsou navíc normálně součástí výsledků). Doporučil bych výsledkovou část prostě rozšířit a rozdělit podle jednotlivých otázek, na které se autorka svými experimenty snaží odpovědět – takto jsou namíchaný často do dlouhého souvislého textu různé věci a čtenář se rychle ztrácí. Ztratila se dokonce i sama autorka, když zaměňuje v textu na str. 19 graf 7 a 11. Diskuze je adekvátní, autorka porovnává dosažené výsledky s předchozími pracemi a nad většinou se kriticky zamýšlí, což naznačuje její poměrně slušné porozumění problému. Na konci práce vše ještě shrnuje v jasně formulovaných závěrech.

Dotazy a připomínky:

1. Spíše perlička vzniklá překlepem – na str. 2 autorka píše: „Mezi agonisty adenosinu řadíme jak jeho antagonisty, tak i jeho analogy.“
2. Str. 3 „...deoxykoformycin je antimetabolit bránící vzniku ADA“ – skutečně brání vzniku ADA?
3. Str. 4 – místo Homometabola by mělo být Holometabola.

4. Str. 4 – „Larvální buňky, které se diferencují během embryonálního vývoje na larvální orgány a prekursorů pro dospělé orgány zůstávají během embryonálního vývoje nediferencované.“ Diferencují se v embryu tedy nebo ne?
5. Str. 5 – „Linie S2 je odvozena z mutanta *Oregon-R*“ – to není mutant, ale původně divoká linie, se kterou se dodnes nakládá jako s „wild-type“ kontrolou.
6. Str. 10 – pGFP s luciferázou *A. victoria* – tento plazmid nenese luciferázu, ale GFP (bylo by dobré specifikovat, o jaký konkrétně plazmid s GFP se jedná)
7. Je možné, aby plazmid izolovaný midi kitem, byl ještě kontaminovaný živými bakteriemi, jak uvádí autorka na str. 13?
8. Str. 14 – u transfekce do buněk Mbn-2 uvádí autorka odsávání média z S2 buněk – jedná se o překlep?
9. Str. 22 – vizualizace GFP se provádí modrým světlem, ne UV (v diskuzi to má autorka uvedeno správně). Proč autorka nepozorovala GFP přímo na miskách po transfekci, na místo stažení buněk z misek a přípravy preparátu?
10. Ve snaze porovnat různé linie buněk mezi sebou, autorka diskutuje na str. 28 problém, kdy používá pro porovnání pouze koncentraci v 1 ml – tedy změny v počtu buněk-proliferaci, ovšem poukazuje na skutečnost, že buňky různých linií jsou různě velké. Tudíž uvažuje, že by se spíše mělo používat přepočítání na množství proteinu? To by ovšem kombinovala odlišné věci – dělení buněk a jejich růst – ačkoliv jsou spolu provázány, zůstává otázkou, zda-li by kombinace těchto dvou aspektů autorce umožnila porovnávat mezi sebou různé linie buněk. Ty prostě mají různé parametry dělení a růst-zvětšování objemu.
11. Jak moc je měření odpovědi AdoR u S2 buněk reprodučibilní? Z práce není jasné, jaká opakování autorka dělala – počítala několik různých jamek v rámci jednoho nasazení experimentu, nebo několikrát nezávisle (jiné datum) nasadila buňky do stejných podmínek?

Na závěr bych rád konstatoval, že předkládaná bakalářská práce Hany Holé splňuje veškerá kritéria, kladená na tento typ práce, a vzhledem k množství vykonaných experimentů a schopnosti je kriticky zhodnotit bych si dovilil předběžně navrhnout hodnocení VÝBORNĚ.