



Doc. RNDr. Dalibor Kodrík, CSc.  
Biologické centrum v.v.i, AV ČR  
Entomologický ústav  
Branišovská 31  
370 05 České Budějovice  
Telefon: přímá linka 387 775 271, ústředna 387 771 111  
Fax: 385 310 354, E-mail: [kodrik@entu.cas.cz](mailto:kodrik@entu.cas.cz)

## Posudek na magisterskou práci Václava Brože – Purifikace a charakterizace proteinu IDGF2.

Předkládaná práce se zabývá studiem výše zmíněného proteinu u *Drosophila melanogaster*, jeho izolací a charakterizací některých jeho funkcí. Práce má klasické členění. V úvodu autor shrnuje základní poznatky o IDGF2 u drosofilů i některý jiných živočišných druhů. Uvádí také některé údaje o hmyzí imunitě. V metodické části autor podrobně popisuje použité metody. Na první pohled je patrné, že jejich rozsah je opravdu neobvykle široký. Výsledky jsou dokumentovány řadou obrázků, grafů a fotografií (z konfokálního mikroskopu). V diskusi jsou rozebírány jednak metodické problémy a dále jsou diskutovány dosažené výsledky s literárními údaji. V práci nechybí závěr a seznam literatury.

Velmi kladně hodnotím to, že autor zpracoval velké množství materiálu, osvojil si řadu metodik a vyprodukoval řadu výsledků. Na druhou stranu práce obsahuje velké množství převážně formálních chyb a nedostatků. Mnohdy také vážně srozumitelnost textu a zejména výsledky často nejsou pořádně popsány a interpretovány, čímž si autor zcela zbytečně kazí výše zmíněný dobrý dojem (hlavní formální výhrady uvádím níže).

### K práci mám následující dotazy, poznámky a náměty do diskuze:

- str. 1, poslední řádek – „Dále z tohoto srovnání vyplývá, že původ proteinů (myslí se IDGF2) sahá až k počátku evoluce živočichů.“ Co se tím konkrétně myslí? Jsou pro toto tvrzení nějaké další údaje?
- str. 2, 3. odst. „Z výzkumů prováděných v naší laboratoři ..... (Kawamura et al. 1999)“.  
Prosím o vysvětlení – v uvedené citaci není žádný spoluautor z Vaší laboratoře.
- str. 3, 2. odst. – „Hmyz je příliš malý pro sběr hemocytů... S tím nesouhlasím, každopádně to neplatí obecně.“
- str. 3, 9. řádek odspodu – „Přítomnost patogena (má být patogenu) vede až k aktivaci dvou transkripčních faktorů Dif a Dorsal. Úloha Dorsal je převážně při embryogenezi...“ Prosím o vysvětlení vztahu - patogen vs. embryogeneze.
- str. 16 a dále Obr. 1 – 6 – autor zde uvádí sérii 6 SDS-PAGE s řadou výsledků, ke kterým v textu není téměř žádný komentář. Prosím o vysvětlení.
- str. 19 – kap. 4.4.1. – 1. odst. Text týkající se Grafu 1. Není tam nic o vlivu LPS, který figuruje v Grafu 1. Prosím o komentář
- str. 23 a dále (zde je zmatek v číslování stran (23, 26, 25, 26!!!) – obrázky z konfokálu. Opět se zde autor okrádá o zajímavé výsledky, protože v textu není nic napsáno o jejich interpretaci a o rozdílech mezi jednotlivými variantami. Obrázky 9 a 10 nejsou v textu uvedeny vůbec, ostatní ve zmateném pořadí. Prosím opět o vysvětlení.
- Výsledky celkově – v práci chybí jakékoliv statistické zpracování výsledků (!), přestože jsou zde srovnávány desítky hodnot se směrodatnými odchylkami. To by v magisterské práci nemělo chybět.
- str. 26, 2. odst. V proteinu IDFG2A byl Asn nahrazen v pozici 115 Ala. Jaký je k tomu

důvod? Co se od změny očekávalo?

Výhrady formálního rázu:

- V číslování kapitol a subkapitol celé práce je zmatek, Úvod i Cíle práce jsou označeny 1, a dále číslo kapitoly neodpovídá číslu subkapitol. Např. Výsledky jsou označeny 3, jejich subkapitoly začínají 4 a objevuje se zde i subkapitola 5.4. (str. 19)
- pokud se v jakékoliv práci uvádí celé druhové jméno živočišného druhu, tak poprvé se uvede celé rodové i druhové jméno, při dalších citacích se z rodového jména použije jen první písmeno. Zde je to naopak – viz. Str. 1 a 3 (vždy první řádky) (ale i dále) *D. melanogaster*
- str 1. píše se Diptera, ne diptera
- str. 4, 9. řádek odspodu – zkomolený název pro fosfatidylinositol-4,5-fosfát
- str. 14. v kapitole 3.3.7.3. je odkaz na kapitolu – 4.9.1. – taková kapitola v práci není
- citace v literárním seznamu jsou uvedeny nejednotně – jména časopisů jsou někdy uváděna zkratkou, někdy neoficiální zkratkou, někdy celým jménem. Autor u nich také používá různé typy písma (normální, velká písmena, kurzíva)
- na str. 38 je uveden seznam zkratek – je v něm však pouhý zlomek opravdu použitých zkratek

Závěr:

Autor zpracoval zajímavou problematiku, zvládl řadu molekulárně-biologických a biochemických metod a shromáždil velký soubor dat. Je škoda, že jejich presentace není tak kvalitní jako data samotná. Přes tuto kritiku doporučuji práci k obhajobě jako jeden z podkladů k získání magisterského titulu. Hodnotí ji známkou „velmi dobře“.



Dalibor Kodrlik - oponent



## OPONENTSKÝ POSUDEK

### Na magisterskou diplomovou práci Bc. Václava Brože: Purifikace a charakterizace proteinu IDGF2

Předkládaná disertační práce přináší další kapitulu velmi komplexního a ambiciózního výzkumu biologických a zejména vývojových účinků hmyzích růstových faktorů, který je prováděn v laboratoři doc. M. Žurovce. Tentokrát je výzkum zaměřen na růstový faktor imaginálních disků, IDGF2, který je u *Drosophila melanogaster* klíčovým faktorem pro metamorfózu a antimikrobiální imunitu.

Bc. Václav Brož během své diplomní práce vytvořil cenné nástroje pro charakterisaci IDGF2 a výzkum jeho účinků v buňkách *D. melanogaster*. Jsou to zejména konstrukty pro expresi a purifikaci IDGF2, reportérové konstrukty a stabilní reportérové buněčné linie pro studium aktivačních účinků IDGF2 na genovou expresi. V magisterské práci jsou popsány též pilotní pokusy, které naznačují další postup. I když tyto pokusy zatím neumožňují učinit jednoznačné závěry, lze předpokládat, že vytvořené materiály poslouží pro získání zajímavých výsledků a stanou se jádrem budoucích originálních publikací jakož i doktorské disertace. Celkové pensum odvedené práce a škála metod, které diplomant úspěšně zvládl svědčí o jeho pílí a dobrém využití vynikajícího laboratorního i myšlenkového zázemí, které mu poskytovalo oddělení doc. Žurovce. Není pochyb, že předložené výsledky splňují požadavky obvykle kladené na magisterskou diplomovou práci.

Jakkoli chválím experimentální výsledky Bc. Václava Brože, musím se kriticky vyjádřit k vlastnímu spisu předloženému k obhajobě, který má malý rozsah a vážné nedostatky ve všech kapitolách.

V úvodu jsou stručně zmíněna základní fakta o rodině *idgf* u *D. melanogaster*, o jejím působení na hmyzí imunitu a možném propojení jejich signálních drah se signalisací z insulinového receptoru. Bohužel je úvod velmi stručný a neposkytuje dobrou orientaci pro čtenáře, kteří nejsou s tématem obeznámeni. Zejména ale nepopisuje, jaká jsou východiska pro vlastní experimentální práci a jakou otázku si autor klade. Chybí zde zmínka o tom, že projekt byl formulován jako pokračování již provedené mikročipové analýzy, která pomohla s výběrem genů potenciálně regulovaných IDGF2. To je řečeno jen jakoby mimochodem až na str. 15 ve výsledkové části. Cíl práce je heslovitě uveden, protože se ale jedná o přípravu reportérových konstruktů a buněčných linií, mělo by být popsáno, jaké cíle má práce splnit.