

## Oponentský posudek bakalářské práce

**Název práce:** Vliv diety na fenotyp signální dráhy přes receptor Notch u *Drosophila melanogaster*

**Autor:** Pavel Steffal

**Školitel:** RNDr. Alena Krejčí Ph.D.

### Celkové zhodnocení práce

Práce je přehledně členěná a působí celkově velmi srozumitelným a uceleným dojmem. Předložená práce má 30 stránek vlastního textu a vychází z 24 zdrojů informací publikovaných v prestižních zahraničních časopisech. Práce je psána srozumitelným jazykem s minimem pravopisných chyb a překlepů.

Autor se v práci zabývá analýzou fenotypu jedné z naprosto klíčových signálních drah, ovlivňujících celou řadu buněčných a fyziologických mechanismů a funkcí. Recentní objevy ukazující úzkou vazbu mezi touto signální drahou (Notch) a metabolickým stavem organismu (buněk), činí tuto studii obzvláště zajímavou a její výsledky by nepochybně odstartovaly další experimenty vedoucí k prestižní publikaci.

Obzvláště bych ocenil snahu zkoumat fenotyp dané signální dráhy a její ovlivnění metabolismem *in vivo*, to znamená v kontextu všech přirozených faktorů ovlivňujících daný fenotyp. Tento přístup umožněný jedinečností zkoumaného modelu může přinést cenné výsledky, avšak přináší s sebou, jak se i autor přesvědčil, celou řadu nepředpokládaných obtíží.

### Úvod

Úvod práce poměrně přehledně a jednoduše představuje čtenáři nejprve obecné principy mezibuněčné signalizace, aby vzápětí v dalších odstavcích popsal samotnou Notch signalizační kaskádu. Působení studované Notch signální kaskády je pro snadnější pochopení ukázáno na dvou příkladech, kdy na konci těchto odstavců autor vždy odkazuje na studované fenotypy.

V následující části úvodu se autor zabývá dalšími faktory ovlivňujícími samotnou Notch signalizaci a sumarizuje zde prokázané vlivy jiných signálních drah i dalších environmentálních faktorů (jako složení diety) a možné mechanismy jejich působení.

V posledním odstavci úvodu jsou zřetelně definovány cíle, kterých chce autor dosáhnout.

Já osobně úvod hodnotím jako velmi zdařilý (možná až překvapivě). Přesto bych přece jen preferoval trochu obsírnější uvedení do takto zajímavého tématu. Navíc by bylo lepší, kdyby autor více tvrzení podpořil citovaným zdrojem (Např. „Z našich experimentů na tkáňových kulturách stejně tak jako z výsledků publikovaných z jiných laboratoří je jisté, že Notch dráhu je možné ovlivnit úrovní buněčného metabolismu. – ve kterých laboratořích, je-li to publikováno, proč to není citováno?“)

### Metody

V této části autor popisuje, které genotypy si vybral k vlastnímu experimentu. Využil dva (nejspíš extrémní genotypy) N55e11 – heterozygotního mutantu v *Notch* receptoru, a H2 heterozygotního mutantu v genu *Hairless*. Dále vysvětluje proč použil právě tyto dvě linie a na jakých dietách a jakým způsobem probíhal samotný experiment. Popis hodnocených fenotypů je doplněn fotografiemi. Velmi vyčerpávající (v dobrém slova smyslu) je část pojednávající o složení jednotlivých diet (ačkoli já osobně bych preferoval udávání množství jednotlivých složek raději v procentech). Z popisu optimalizace diet je

znát, že se s nimi autor hodně natrápil a zdá se, že jejich příprava, pro podobný experiment naprosto klíčová, by mohla být zdrojem velké variability.

Samotný text metod už není tak dobře čtivý jako úvod.

Také měření cévy- tedy tracheje L5 je popsáno trochu zmateně. Kdy jednou je napsáno, že autor měřil poměr chybějící cévy v poměru k délce cévy přítomné, aby vzápětí v závorce napsal, že vlastně měřil velikost cévy chybějící.

Co mi naprosto v metodách chybí, je popis statistického zhodnocení výsledků. Popis, jakým způsobem bylo rozhodnuto o statisticky významným rozdílu v měřených fenotypech.

## Výsledky

Kapitola výsledků je rozumně členěna podle použitých genotypů a podle měřeného fenotypu na jednotlivých dietách.

Každý experiment je zastoupen přehledným grafem, který umožňuje srovnání výsledků a souhrnnou tabulkou udávající průměrné měřené hodnoty a počet jedinců zastoupených v jednotlivých experimentech. Výsledky jsou celkově velmi dobré a hezky popisují, co bylo skutečně pozorováno.

Přesto mám pár připomínek k prezentovaným datům.

V popisku k Obrázku 1, Tabulka IV, Obrázku 6, Tabulka VI je napsáno, že byla kvantifikována delta cévy L4, měla ale být kvantifikována delta cévy L5 – jedná se o překlep, nebo se hodnotila jiná delta. V popiscích všech obrázků není popsáno, co zobrazují chybové úsečky. Stejně tak není popsána statistická metoda ani signifikance diskutovaných výsledků.

U kvantifikace délky cévy L5 chybí popis osy Y, není tedy zcela jasné, jaké jednotky jsou na této ose vyneseny.

Jistě by neuškodilo na konci výsledků ještě jednou shrnout nejvýznamnější pozorované výsledky.

## Diskuse

V diskuzi autor pěkně diskutuje své nové výsledky s výsledky, které byly již publikovány. Zamýšlí se nad mechanismy regulace Notch signalizace metabolickým statutem jedince a snaží se nalézt odpověď, která by vysvětlila, proč nebyly očekávané rozdíly ve fenotypu pozorovány. Ke konci diskuse a v závěru autor velmi věcně zhodnocuje přínos své práce a navrhuje další experimenty, které by měly vést k získání přesvědčivějších výsledků. K této kapitole nemám žádné zásadní připomínky, ale napadlo mě pár otázek, na které by mi mohl pomoci autor nalézt odpověď:

- Jedna z klíčových citací, ze které autor v této práci vychází při chystání jedné z diet neodpovídá citaci uvedené v indexu literatury (konkrétně Merdes a kol. v práci Sieboug et al. 2012), zajímalo by mě, jestli v této práci autoři pozorovali kromě markeru exprese Notch aktivity v křídelních discích i fenotyp na dospělých.
- Jak by šlo experimentálně (ve vašem případě) ověřit míru exprese *Sir2*, to by mohlo pomoci při výběru těch správných diet a sledování fenotypu by pak následovalo.
- Není samotná kukuřičná mouka použita pouze v experimentu jedna (jediný, který „vyšel“) zdrojem značného množství cukru?
- Lze ukázat nějakým experimentem míru přijaté potravy na jednotlivých dietách?



- Jak přesně byla měřena délka chybějící cévy L5, nebylo by lepší udávat poměr přítomné části v poměru k části křídla, která není fenotypem měněna?
- Šlo by měřit velikost vykousnutí křídla (Notche)? Proč se nekvantifikovala plocha vykousnutí v poměru k ploše jiné oblasti křídla.
- Ovlivňuje dieta celkovou velikost jedinců?
- Nízko-nutriční diety měly za efekt velkou úmrtnost jedinců. Ty by zrovna mohly mít výrazný efekt na fenotyp. Je nějaký způsob, jak se této úmrtnosti vyhnout a přitom jedince vystavit nutričnímu stresu? (Critical point, Beadle et al. 1938, <http://www.biolbull.org/content/75/3/447.full.pdf+html>)

**Závěr:** Práci hodnotím velmi kladně. Jde nepochybně o projekt upozorňující na často přehlíženou komplikovanost buněčné signalizace a regulace. Jak je z výsledku patrné, studování jakéhokoli mechanismu v kontextu celého organismu se stává nesmírně obtížným úkolem, který vyžaduje především precizní přístup minimalizující vliv vnějších podmínek. Právě s tímto problémem se autor ve své práci nejvíce potýkal. Rozhodně proto doporučuji, aby byly ještě prezentované experimenty zopakovány, než autor (respektive celá laboratoř) od tohoto tématu zcela upustí. Práci bez váhání doporučuji k obhajobě a navrhuji známku 1-2 v závislosti na samotné obhajobě autora.

V Českých Budějovicích 6.1.2014

Mgr. Adam Bajgar Ph.D.

