



Ing. Pavel Jedlička, Ph.D.
Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, v.v.i.
Flemingovo nám. 2.
166 10 Praha 6
E-mail: jedlicka@uochb.cas.cz

Oponentský posudek na bakalářskou práci **Michaely Mochanové** s názvem:

Úloha adipokinetického hormonu u octomilky obecné *Drosophila melanogaster*

Autorka předkládá práci vypracovanou z podpory projektu České grantové agentury, řešeným v Laboratoři fyziologie hmyzu, ENTÚ, Biologické centrum AVČR, v.v.i. Prezentuje zde srovnání metabolických rezerv a jejich změny po aplikaci adipokinetického hormonu na modelu *D. melanogaster*. Konkrétně byly použity dvě linie mutované v genu pro AKH (AKH-def a R-AKH) a další dvě s mutací v genu pro adenosinový receptor (AdoR-def a ExAdoR-def). Klon White sloužil jako kontrola k ostatním. Z dřívějších prací je známo, že AKH a adenosin se účastní regulace podobných metabolických dějů, proto cílem překládané práce bylo podhalit možné propojení těchto signálních drah na úrovni energetických rezerv.

K posouzení mi byl předložen text o 40ceti stranách k jehož kapitolám se postupně vyjádřím.

Úvod dostatečně pokrývá obecný přehled literatury k dané problematice (na 66 citací). Formální rozdělení části o AKH do úvodní kapitoly a třech podkapitol, kde se prolíná téma AKH s obecným popisem celé endokrinní soustavy u hmyzu a obecným mechanismem působení hmyzích hormonů, bych doporučil zhustit do jedné stručnější kapitoly, která se týká pouze AKH u hmyzu, místa jeho syntézy a jeho působení na molekulární a dalších úrovních (včetně chování) a pak specifikace signalizace AKH u modelu *D. melanogaster*. Právě spíše než obecné informace o AKH mi chybí víc dat přímo o AKH versus studovaná *D. melanogaster*. Například práce Lee & Park (2004) se přímo zabývá transgenní manipulací genu *AKH* u larev *D. melanogaster* a s tím spojenou mobilizací energie a v předložené práci je uvedena jen jako dokládající lokalizaci AKH ve žlázách *corpora cardiaca*. Tato práce (Lee a Park 2004) je sice spolu s „Isabel a kol. 2005“ citovaná, ale jen v obecné kapitole „Místo syntézy AKH“ což je z logiky členění textu chápáno jako u hmyzu obecně, přitom se obě citace týkají přímo studovaného druhu *D. melanogaster* a obsahují další významné informace související s tématem. To se dozví jen zvědavější čtenář (nebo oponent), který citaci zná, nebo si ji vyhledá. Vzhledem k obhajovanému tématu autorky by podkapitolka „AKH u modelového druhu *D. melanogaster*“ v textu neměla chybět. Podobné je to s uvedenou citací Žuberová a kol. 2010, která se zabývá změnami hladin adenosinu, glukózy a trehalózy v hemolymfě larev u linií *D. melanogaster* mutovaných v genu pro adenosine deaminase-related growth factor (ADGF-A) a receptoru pro adenosin. V úvodním textu autorka nezmiňuje, které metabolity (glycidy) byly v souvislosti s AKH a adenosinem už studované. Přitom by to byl přirozený odrazový můstek pro stanovení „Cílů práce“. Obecně statě

1.1.1 a 1.1.3 nejsou z velké části ocitované (že by skriptum prof. Kodrika?) a trochu to kazí dojem z jinak na citace bohaté rešerše. Myslím, že jejich vypuštění by textu neublížilo.

Text dále obsahuje pár drobnějších formálních chyb, které ovšem považuji za zanedbatelné.

Cíle jsou jasně definované.

Materiál a Metodika jsou velmi podrobné a srozumitelné. Opakování jednotek pro každou hodnotu v číselných řadách, jako např. ředění kys. olejové pro kalibrační křivku je zbytečné, údaj stačí uvést jen jednou (např. v závorce za posledním číslem).

Výsledky. Autorka získala relativně velké množství výsledků, které přehledně prezentuje v osmi grafech. Použitá statistika na srovnání dat je odpovídající designu experimentu. Popis je stručný a výstižný.

Diskuze a Závěry. Jak už to ve výzkumu bývá, tak výsledky přinesly více otázek než odpovědí. Hlavním deklarovaným výsledkem je zvýšená koncentrace glycidů v tělech much po externí aplikaci AKH. S tím je spojena řada otázek, které je třeba zodpovědět před správnou interpretací a já je uvádím jako možná témata k diskuzi v rámci obhajoby:

Co se tedy myslí „glycidů“ navýšenými po aplikaci AKH? Všechny volné redukující a neredukující mono- a poly-sacharidy v tělech much (tedy všechno kromě glykogenu)? Navíc trehalóza se po aplikacích AKH naopak snižovala, takže ta součástí zvýšených „glycidů“ asi nebude.

Pokud by jejich zvýšená hladina souvisela s podaným AKH, nedala by se jejich vysoká koncentrace očekávat už u R-AKH mutantů, kde má být hormonu už endogenně nadbytek (odpovídala by tomu i právě zde nejmenší hladina zásob glykogenu)?

S tím souvisí další – je z literatury známý údaj o expresi AKH u R-AKH mutantů (?), jde opravdu o over-expresi i proti AKH-nemutovanému klonu White?

Proč nebyl glykogen měřen i u jedinců po aplikaci AKH, když samotní mutantí ukázali signifikantně nižší hodnoty? Vzhledem k těžko definovatelným „glycidům“ by právě glykogen mohl být dobrým ukazatelem pro mobilizaci energetických rezerv.

V práci Žuberová a kol. 2010 byla měřena trehalóza i glukóza. Právě hladina glukózy v hemolymfě se signifikantně lišila u testovaných mutantů (je také uvedena v modelu návrhu mechanismu působení adenosinu a AKH Obr. 1). Toto není moc diskutováno. Proč byla vybraná trehalóza jako stěžejní metabolit?

Závěrem

Jak již bylo uvedeno, teoretická část předložené práce obsahuje celkem velké množství citací, nicméně je více obecná a publikace, které se týkají přímo tématu, nejsou dostatečně „vytěžené“. Těžištěm prezentované práce je pro mě část praktická, která je přehledná a bohatá na výsledky. Autorka získala pěkné podklady pro další výzkum na daném projektu, a pokud bude v tématu pokračovat i v magisterském studiu, věřím, že je zúročí.

Práci doporučuji k obhajobě, jako jeden z podkladů pro získání bakalářského titulu.

v Praze 12. května, 2015

Pavel Jedlička