

Příloha k protokolu o SZZ č.

Autor: Petr Hůla

Vysoká škola: Jihočeská univerzita v Č. Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

Oponent diplomové práce

Katedra: Fyziologie živočichů

doc. PaedDr. Radka ZÁVODSKÁ, Ph.D.

Datum odevzdání posudku: 20. 5. 2015

POSUDEK BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Denní a cirkadiánní rytmicita chování a fyziologických funkcí u larev mušky *Chymomyza costata*

Předložená práce obsahuje 39 stran textu a cituje 244 literárních pramenů.

Cílem bakalářské práce Petra Hůly bylo zjistit, zda časné stádium 3. larválního instaru mušky *Chymomyza costata* má již funkční cirkadiánní hodiny a to na základě stanovení rytmických denních změn v aktivitě vybraného enzymu (glukózo-6-fosfát dehydrogenáza) a v expresi (hladiny mRNA transkriptů) šesti genů: *wrille*, *cuticular protein 8a*, *cuticular protein 8b*, *G6P-DH*, *CG 34227* a *sosie*.

V teoretické části Petr Hůla podává ucelený a na základě velkého počtu literárních zdrojů pěkně zpracovaný přehled o struktuře a funkci fotoperiodického kalendáře hmyzu i funkci a molekulárních mechanismech cirkadiánních hodin u hmyzu, zvláště u octomilky, *Drosophila melanogaster*, která slouží jako klasický model pro studium biologických hodin.

V rozsáhlém literárním přehledu se vyskytují častější překlepy, gramatické chyby (např. chybné pády) či stylistické neobratnosti, které sice nesnižují obsahovou stránku teoretické části, ale v bakalářské práci by měla být věnována péče rovněž formálnímu zpracování textu.

Autor bakalářské práce prokázal, že zvládl všechny molekulárně-biologické metody potřebné ke stanovení změn enzymatické aktivity glukózo-6-fosfát dehydrogenázy (G6P-DH) v závislosti na denním a cirkadiánním čase a ke sledování denních změn v expresi šesti vybraných genů.

Výsledky ukázaly, že rozdíly v denní a cirkadiánní aktivitě G6P-DH nejsou statisticky významné. Denní rytmus byl detekován v expresi genů *sosie* a *CG34227*. Zjištěné výsledky, které byly získány s použitím reverzní transkriptázy AMV (Promega) jsou brány jako předběžné a budou následně autorem práce ověřeny použitím jiné reverzní transkriptázy-Super Script III (Invitrogen).

Prezentace výsledků v bakalářské práci je redukována na přehled obrázků (grafů) závislosti relativní četnosti mRNA transkriptů jednotlivých genů na denním fotoperiodickém čase. Vhodnější by bylo doplnit výsledky o souvislý text či spojit kapitoly Výsledky a Diskuse dohromady a odkazovat na uvedené grafy.

V diskusi autor prokázal dobrou znalost studované problematiky a vhodně porovnal dosažené výsledky s výsledky a interpretacemi jiných autorů.

Celkové hodnocení:

I když cíle práce byly splněny, i podle slov autora, pouze částečně (exprese genů sledována v denních časech) a zbývá analýza exprese v konstantních podmínkách a to s použitím reverzní transkriptázy Super Script III, ukázaly dosavadní výsledky, že Petr Hůla dobře zvládl zadání práce a prokázal schopnost vyvodit z dosažených výsledků správné závěry i navrhnout modifikaci metod pro další práci. Petr Hůla bude velmi dobře schopen zkoumanou problematiku dále úspěšně studovat a pokračovat ve výzkumu endogenní rytmicity exprese genů *soise* a *CG34227* u fotoperiodicky citlivých larev 3. instaru *Ch. costata* a přispět tak k objasnění funkce biologických hodin a jejich funkčnímu vztahu k fotoperiodickému kalendáři.

Otázky a připomínky:

V textu jsou používány pojmy „cirkadiánní“ a „cirkadiální“. Jsou oba termíny správné?

Co jsou „jaderné hodinové proteiny“?

Proč je při nástupu denního světla TIM rychle degradován?

Na str. 20 píšete: „Věř se, že PDF hraje klíčovou roli jako signální molekula, která synchronizuje jednotlivé neurony tvořící neuronální síť pacemakeru“. Jsou pro to nějaké důkazy?

V textu by se měly uvést nejdříve celé názvy proteinů a pak zavést jejich zkratky- viz CRY (str. 14), CWO, VRI (str. 15), které se používají dále, aby se mohli dobře orientovat i čtenáři, kteří nejsou zběhlí v dané problematice.

Již jsou známé nové výsledky s využitím SuperScriptu III pro reverzní transkripci? Potvrdila se denní (případně cirkadiánní) oscilace *soise* mRNA a *CG34227* mRNA?

Předložená bakalářská práce splňuje požadavky kladené na bakalářské práce na Přírodovědecké fakultě JU, a proto ji doporučuji k obhajobě.

Návrh na klasifikaci diplomové práce: velmi dobře


.....
Podpis oponenta diplomové práce

V Č. Budějovicích dne 20. 5. 2015

Stupeň klasifikace	výborně	velmi dobře	dobře	nevyhověl
--------------------	---------	-------------	-------	-----------