Příloha k protokolu o SZZ č. Klikněte sem a zadejte text.

Vysoká škola: Jihočeská univerzita v Č. Budějovicích, Přírodovědecká fakulta

Katedra: zoologie

Datum odevzdání posudku: 17.5.2017

Autor(ka): Veronika Francová

Obor: Klikněte sem a zadejte text.

Recenzent bakalářské práce Klikněte sem a zadejte text.

POSUDEK BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Název práce

Imunocytochemická lokalizace „hodinového" proteinu CLOCK v mozku larev octomilky Chymomyza costata

Práce obsahuje 24 stran textu, 4 strany příloh a cituje 27 literárních pramenů.

Předložená bakalářská práce je:

☒ výzkumná (V) ☒ má charakter vzdělávacího projektu (P)
☐ výlučně rešeršní (R) ☐ jiná (specifikujte: .....) (J)

ÚVOD, LITERÁRNÍ PŘEHLED, METODIKA

Úvod práce zřetelně a přesně vymezuje problematiku a cíle práce

○ zcela souhlasí ◉ spíše souhlasí ○ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

Literární přehled:
je jasný a přehledný, má logickou strukturu

○ zcela souhlasí ◉ spíše souhlasí ○ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

se vztahuje k zadané problematice

○ zcela souhlasí ◉ spíše souhlasí ○ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

obsahuje dostatečné množství informací

○ zcela souhlasí ○ spíše souhlasí ◉ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

Metodika práce jasná, přehledná a srozumitelná, použité metody jsou řádně uvedeny a popsány

○ zcela souhlasí ◉ spíše souhlasí ○ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

Vybraná metodika a postupy mohou splnit vytčené cíle

◉ zcela souhlasí ○ spíše souhlasí ○ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

VÝSLEDKY PRÁCE

Srozumitelně prezentované výsledky

○ zcela souhlasí ◉ spíše souhlasí ○ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

Tabulky a grafy jsou přehledné, vhodně doplňují výsledky, neduplikují se

○ zcela souhlasí ○ spíše souhlasí ○ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

Obrázky jsou přehledné, kvalitní a správně popsané

○ zcela souhlasí ○ spíše souhlasí ◉ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

Získané výsledky jsou správně a úplně vyhodnoceny

○ zcela souhlasí ◉ spíše souhlasí ○ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

K vyhodnocení výsledků byly použity správné metody

◉ zcela souhlasí ○ spíše souhlasí ○ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ A ZÁVĚR

Diskuse je odpovídající, autor(ka) prokázal(a) schopnost interpretovat získané výsledky

○ zcela souhlasí ○ spíše souhlasí ◉ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

Autor(ka) porovnala získané výsledky s podobnými pracemi v daném oboru

○ zcela souhlasí ○ spíše souhlasí ◉ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

Práce má jasný a jednoznačný závěr, který je podložen výsledky a jejich interpretací

○ zcela souhlasí ◉ spíše souhlasí ○ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

Cíle práce by splněny

○ zcela souhlasí ◉ spíše souhlasí ○ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

FORMÁLNÍ ZPRACOVÁNÍ PRÁCE

Formální členění práce odpovídá požadavkům na odborné práce kladeným, je logicky uspořádané

○ zcela souhlasí ◉ spíše souhlasí ○ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

Převzaté informace a jejich parafráze jsou v textu řádně vyznačeny a správně citovány

○ zcela souhlasí ◉ spíše souhlasí ○ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

Grafické zpracování má potřebnou úroveň; použité obrázky vhodně doplňují text práce

○ zcela souhlasí ○ spíše souhlasí ◉ spíše nesouhlasí ○ zcela nesouhlasí

Pravopisně a stylisticky je text na potřebné úrovni, s minimem chyb a překlepů

○ zcela souhlasí ○ spíše souhlasí ○ spíše nesouhlasí ◉ zcela nesouhlasí

ZÁVĚREČNÉ HODNOCENÍ, PŘIPOMÍNKY A OTÁZKY:

Cílem bakalářská práce Veroniky Francové bylo zjistit na základě imonocytochemické detekce expresi proteinu CLOCK v buňkách mozku larev 3. instaru divokého kmene octomilky *Chymomyza costata* a porovnat intenzitu imunochemického signálu v čtyřech různých časech v průběhu 24 hodinové fotoperiody, která se sestávala z 12 hodin světla a 12 hodin tmy. Součástí práce bylo optimalizovat metodický postup pro detekci proteinu v nervové tkáni zájmového organismu a popsat postup změření intenzity signálu s využitím softwarového programu ImageJ.
Po formální stránce je bakalářská práce členěna správně, je logicky uspořádána tak, jak to odpovídá požadavkům kladeným na odborné práce. Po stylistické a obsahové stránce je předložená bakalářská práce velmi nevyrovnaná. Úroveň některých kapitol je velmi nízká (např. kapitola 1, kapitoly 2.1, 2.3, 4.2, 4.3), jiné pasáže jsou formulovány lépe (např. kapitoly 2.2, 2.4), i když překlepy se vyskytují hojně ve všech částech práce.

Teoretická východiska jsou velmi stručná, některé informace se opakují několikrát (například vysvětlení co je to

fotoperioda se opakuje třikrát v průběhu prvních tří stran), u stejných tvrzení jsou uvedeny různé citace (např. str. 5 – identifikace genů *period* a *timeless*), nejsou vysvětleny všechny zkratky, jiné zkratky jsou psány různě (např. SD versus sd), což může stěžovat orientaci čtenářům, kteří danou problematiku podrobně neznají. Například zkratky LNv, DN jsou v textu zmiňovány od strany 6, ale až na straně 8 je schéma, z něhož je čtenáři zřejmé, že tyto zkratky představují skupiny neuronů na základě jejich pozice v mozku larvy. Bohužel toto schéma (obr. 2, str. 8) není popsáno správně (modře označené neurony představují skupinu buněk v textu značenou jako LNv 1-4, červeně označený neuron je v textu uváděn pod zkratkou LNv 5 a žlutě vyznačené buňky nejsou skupinou DN 1, ale DN 2).

Vybraná metodika a postupy byly zvoleny správně a vedly ke splnění vytčeného cíle, kterým byla kvantifikace intenzity imunochemického signálu. Právě to, že autorka bakalářské práce prakticky zvládla provedení náročných imunocytochemických metod a kvantifikaci intenzity signálu v neuronech mozku, přispělo nejvíce k závěrečnému kladnému hodnocení bakalářské práce, ačkoliv zde nacházíme řadu chyb a dílčích nedostatků. Za jeden z významných nedostatků práce pokládám to, že ačkoliv Veronika Francová jako jeden z cílů uvedla optimalizaci metodického postupu pro detekci imunipozitivního signálu v buňkách nervové soustavy larev *Ch. costata*, ve skutečnosti v práci pouze popsala, jak postupovala podle zvyklostí a podmínek v laboratoři (například časových, prostorových, či podmínek daných aktuálním vybavením a dostupností reagencií). V kapitole 4.2 je například v bodě 1 e) uvedeno, že vzorky byly uchovány v čistém PB (fosfátovém pufru) 3 dny v lednici- toto není nutná podmínka, vzorky se mohou zpracovat hned, ale v časové tísni je možné je uchovat po několik dní při 4° C, stejně tak není nutným krokem v bodě 2b) a 4b) uchovávat vzorky ve tmě. Na druhé straně v bodě 5d) musí být vzorky při vymývání sekundární protilátky značené fluorescenčním barvivem uchovávány ve tmě, což zde ale není uvedeno. Mohla by autorka v rámci rozpravy vysvětlit, kdy a proč je důležité uchovávat vzorky ve tmě a kdy a za použití jakých protilátek to nutné není? Bod 6a je zcela irelevantní v případě, že pracujeme se skly, která nejsou zakalena vinou prošlé záruční doby. Krycí sklo je obroubeno lakem na nehty z důvodu, aby nedošlo k vyschnutí média spíše než z důvodů zafixování, jak uvádí autorka.

V rámci výsledků předkládá autorka data a na základě nich vytvořené grafy, které dokumentují intenzitu fluorescenčního signálu v CLOCK-pozitivních buňkách. Analyzuje odděleně cytoplazmatický a jaderný signál ve skupině čtyř laterálních neuronů (LNv 1-4), kde je kolokalizován pigment disperzní hormon (PDF), signál v páté buňce (LNv 5), kde PDF exprimován není a v dorsálních neuronech skupin DN 1 a DN 2. Může autorka vysvětlit, proč bylo důležité detekovat protein PDF, když sledovala výskyt proteinu CLOCK? Veronika dochází k závěrům, že intenzita signálu byla ve všech zkoumaných časech nízká a zatímco hladina proteinu CLOCK nevykazuje denní oscilaci v neuronech LNv 1-4, intenzita signálu v LNv 1 vykazuje závislost na denním čase s maximem dvě hodiny po zhasnutí (ZT 14) a minimem dvě hodiny po rozsvícení (ZT 2). Výsledky jsou doplněny obrázky CLOCK- , resp. PDF-pozitivních buněk, ale kvalita fotografií není vysoká. Zvětšení uvedené v popisu obrázků není celkové zvětšení buněk, ale jedná se o zvětšení objektivu. Autorka také v legendách u obrázků neuvádí srozumitelně počty buněk, u nichž byla hodnocena intenzita signálu. Např. u obr. 10 se počty hodnocených buněk (n) nepohybují od 3 do pěti (n= 3 až 6), ale počet buněk n = 3 v čase TZ 2, n= 5 v časech ZT 14 a ZT 20 a n= 6 v čase ZT 8.

Diskuse je koncipována spíše jako závěr a shrnutí zjištěných výsledků, chybí porovnání s výsledky jiných prací. Na druhou stranu se autorka snažila interpretovat zjištěné výsledky v kontextu širšího, v současné době probíhajícího výzkumu fotoperiodického kalendáře a cirkadiánních hodin u *Ch. costata*.

I přes výše uvedené připomínky doporučuji práci k obhajobě. Vzhledem k tomu, že autorka zvládla náročné postupy imunocytochemického šetření, základy konfokální mikroskopie a kvantifikaci fluorescenčního signálu prostřednictvím programu ImageJ navrhuji klasifikovat ještě velmi dobře, i když práce trpí řadou nedostatků, které jdou pravděpodobně na vrub malé pečlivosti a časové tísni při zpracování bakalářské práce.

Návrh na klasifikaci bakalářské práce: velmi dobře

.....

Podpis Recenzenta bakalářské práce

V Českých Budějovicích dne 17.5.2017

Stupeň klasifikace	výborně	velmi dobře	dobře	nevyhověl