

Posudek školitele na bakalářskou práci

**Imunocytochemická lokalizace „hodinového“ proteinu CLOCKv mozku larev octomilky
*Chymomyza costata***

Student: Veronika Francová

Školitel: Vladimír Košťál

Veronika Francová studuje obor Medicínská a laboratorní technika. Z tohoto důvodu bylo těžiště její bakalářské práce směřováno do laboratorní praxe. Hlavním cílem práce bylo naučit studentku celý komplex metod, jež jsou používány pro lokalizaci a kvantifikaci proteinového antigenu na preparátech hmyzí tkáně. Po biologické stránce byl bakalářský projekt formulován jako příspěvek k našemu dlouhodobému a rozsáhlému výzkumnému programu, který se zabývá fyziologickými principy hmyzího fotoperiodického kalendáře.

V rámci bakalářského projektu vstřebala Veronika teorii, a zvládla praxi poměrně náročné laboratorní práce, která začíná chovem hmyzu, specifickou aklimací v určitých fotoperiodických a teplotních podmínkách, pitvou larválních mozků, a pokračuje přes fixaci tkání, hybridizaci antigenu s protilátkami, promývání a přípravu vlastního preparátu, až po konfokální mikroskopii, hodnocení obrazu v programu Image J a statistické zpracování dat. Veronika pracovala s protilátkou proti drosophilímu hodinovému proteinu CLOCK a hledala neurony, kde je tento protein exprimován u larev octomilky *Chymomyza costata*. Jelikož tato kombinace protilátky a cílového organismu nebyla dosud testována, Veronika musela optimalizovat některé kroky celého procesu. Zvládnutí komplexu metod vyžaduje jednak preciznost, ale také určitou "intuici a zručnost", jež nejsou každému dány a nebo je třeba je získávat velmi pracným a dlouhým tréninkem. Proto si velmi cením, že Veronice se podařilo získat některá zajímavá data, která nakonec skutečně přispívají k našemu postupnému poznávání funkce fotoperiodického kalendáře hmyzu (zde bych rád doplnil, že ačkoli je podstata fotoperiodického kalendáře hmyzu teoreticky postulována již zhruba sto let, jeho anatomická lokalizace a biochemicko-molekulární princip zůstávají dosud neznámé).

Nejcennější částí bakalářské práce je popis exprese proteinu CLOCK v neuronech LNv 1-4. Tento popis je založen na robustních datech, rozlišuje jaderný a cytoplazmatický signál, a je založen na porovnání signálu "markerového" proteinu PDF a "hodinového" proteinu CLOCK. Vzhledem k náročnosti práce a k omezenému času se nepodařilo získat podobně robustní data také pro ostatní lokality výskytu proteinu CLOCK v larválním mozku *C. costata*.

Veronika splnila očekávané cíle diplomové práce. Dostatečně porozuměla biologickému pozadí celého experimentu, vyzkoušela a optimalizovala imunocytochemické techniky, provedla sérii experimentů a samostatně sepsala diplomovou práci, kterou doporučuji k obhajobě.

9. 5. 2017

V Českých Budějovicích

