



10. června 2020

Oponentský posudek na magisterskou práci Bc. Karolíny Svobodové

Hlavním cílem magisterské práce Karolíny Svobodové bylo vytvořit *Drosophila* mutantní pro dva geny účastnící se regulace metabolismu, tedy pro adipokinetický hormon a receptor pro corazonin, a pak otestovat metabolické parametry a aktivitu insulinové dráhy tohoto mutanta. Z výsledků práce plyne, že vztah těchto dvou genů je o mnoho komplexnější, než se dalo očekávat podle původního předpokladu, ale Karolíniny výsledky jsou jistě cenným příspěvkem k objasnění této složité problematiky.

Práce je po formální stránce velice dobře a srozumitelně sepsaná, s minimem překlepů a nejasností. Úvod je stručný, ale přesně směřovaný k pochopení cílů a výsledků práce. Objevila jsem sice citaci, která není v seznamu literatury (str.2, Suzawa et al., 2019) a ne vždy je první uvedení zkratky v textu vypsáno celým názvem (např. str. 2, ILP, TG a další), to ale nijak nenarušuje celkově velmi dobrý dojem z textu. Metody jsou zpracované přesně a přehledně, snad jen u popisu real time PCR chybí uvedení primerů pro normalizační gen *Rack1* a zdůvodnění výběru tohoto netypického normalizačního genu. Je zřejmé, že metodicky byla práce velmi náročná a Karolína obsáhla mnoho různých technik. V obsahu celé práce oceňuji přesný popis genotypů a detailní legendu ke všem prezentovaným grafům, stejně tak dostatečný počet biologických replikátů a statistické zpracování dat. Výsledky jsou tedy solidní a lze na ně v budoucnu dobře navázat. Z prezentovaných výsledků je vidět, že téma se vyvíjelo a že se testovalo několik alternativních hypotéz, což nutně vedlo k určité nesystematičnosti co se komplexní analýzy týká, to ale vzhledem k časové alokaci pro magisterskou práci zcela chápu. Je škoda, že nedošlo k detailnější metabolické analýze dospělců dvojitého mutanta, kde se fenotyp narozdíl od larev zřejmě mohl lépe projevit (Galíková, 2015). Z diskuse je patrné, že autorka dobře zná relevantní literaturu, dokáže svá data vsadit do publikovaného kontextu a navrhnout další směřování projektu.

Práci hodnotím jako velice zdařilou a bez váhání navrhuji hodnocení stupněm *výborně*.

Dotazy, které by bylo dobré zodpovědět během obhajoby:

- v textu legendy k obr. 8 je uvedeno, že experiment byl proveden v nezávislém triplikátu, ale prezentovaná data zjevně ukazují pouze jedno opakování. Jak reprodučibilní byla jednotlivá opakování např. v experimentu B?
- jedním z vysvětlení výsledků prezentovaných na obrázku 8C by mohlo být to, že corazoninový receptor (dráha) negativně ovlivňuje aktivitu AKH a AKH negativně ovlivňuje Crz. Je něco známo např. o dimerizaci AKH receptoru a corazoninového receptoru nebo o dimerizaci AKH a corazoninového ligandu, jež by na sebe v některých tkáních mohli vzájemně antagonisticky působit ?
- jak si vysvětlujete výsledky hladovění corazoninového mutanta, které se liší od publikované práce Kubrak, 2016?
- proč byly výsledky real time PCR normalizovány právě ke genu Rack1? Jedná se o netypický housekeeping gen a jeho výběr byl tedy zřejmě cílený oproti např. rp49.
- z textu k obrázkům 9 a 10 není jasné, zda je obsah sacharidů normalizován na proteiny, prosím o vysvětlení. Stálo by také za zvážení, zda neprezentovat většinu dat v práci (či obhajobě) formou whisker plotu s jednotlivými biologickými replikáty.
- AKH mutant, stejně jako dvojitý mutant (AKH a CrzR) vykazuje větší rezistenci vůči hladovění. Tyto výsledky naznačují, že musí existovat jiná signální dráha než AKH, která řídí postupné uvolňování živin během hladovění. O jakou signální dráhu by se mohlo jednat?

RNDr. Alena Krejčí Bruce, Ph.D.