

**Atypická distribuce neuropeptidu corazoninu v buňkách kruhové žlázy u larev  
*Drosophila melanogaster* s mutací v adipokinetickém hormonu**

studentka: Bc. Kristýna Sládková  
školitel: Mgr. Hana Sehadová, PhD.  
oponent: RNDr. Andrea Bednářová, Ph.D.

Hlavním cílem této práce bylo ověřit výskyt corazoninu v buňkách *corpora cardiaca* v kruhové žláze *D. melanogaster* u linie mutantní v genu pro *Akh* a pokusit se odhalit signální dráhu, pomocí které tato mutace vyvolává produkci Crz v atypických místech. Další cíle práce zahrnovaly praktické zvládnutí komplexní metodiky imunohistochemické detekce protein pomocí fluorescenční a konfokální mikroskopie. Problematiku řešenou v této bakalářské práci považuji za tematicky vhodně zvolenou a zajímavou.

K práci mám následující formální připomínky, na které není třeba reagovat:

- Některé formulace jsou vágní, např. str. 15 „Mozky byly inkubovány v blokovacím mediu připraveném z 5% normálního kozího séra. Co je to za označení „normální“ kozí sérum?
- Dále pak podobná připomínka, když mluvíme o kontrolní linii drozofil, nepoužíváme výraz „přírodní“ linie, ale kontrolní.
- Několikrát je v textu *Akh* jako hormon takový, označen jako *Akh1*, tedy stejně jako talenový mutant, jde zřejmě jenom o nepozornost při psaní, ale mnohdy je to zavádějící.
- Česky se slovo *Drosophila* píše jako drozofila. Několikrát v textu uvedeno nesprávně. Jde o detail.
- Výsledky, konkrétně podkapitola 4.1, 4.2, a s tím související obrázky. Je důležité popsat, že se jedná o mapování distribuce *Akh* a *Crz* u larvalního mozku kontrolních linií drozofil. Čtenáři to posléze dojde, když následující kapitoly pojednávají o distribuci *Akh* a *Crz* u mutantních linií, je ale třeba, aby tato specifikace byla explicitně vyjádřena, a to klidně i přímo v popiskách jednotlivých kapitol.
- Napříč celým textem je chybně uváděn název mutantní linie v receptoru pro corazonin. V kapitole 3., straně 14. je popis všech mutantních liniích použitých v této práci. Uvádí se, že byla použita linie mutantní pro receptor corazoninu a to pod označením *CrzR<sup>01</sup>*. A linie označená jako *Akh1*, *CrzR<sup>01</sup>*, kde je mutace v genu pro *Akh* a chybí receptor pro corazonin. V textu se ale mnohokrát pojednává o *Crz01* mutantovi, a *Akh1-Crz01* mutantní linii, takže to vypadá, že byla použita i linie mutantní v genu pro *crz*. Ale předpokládám, že ta testovaná nebyla? Je to extrémně matoucí.

### K práci mám následující dotazy:

- Proč nebyla v této studii použita i linie mutantní v genu pro *crz*? *Crz* a *Akh* mohou mít překrývající se biologické funkce, což není překvapující, protože jejich receptory jsou evolučně příbuzné. Jak by ale vypadaly výsledky, kde by byl studován i *Crz* mutant, a ne pouze mutant v receptoru pro *Crz*. Je možné, že stejný receptor může fungovat pro přenos signálu různých peptidů, a tedy poskytující pleiotropický model funkčních regulací různých procesů? Teoretická otázka.
- Byla studována i pohybová aktivita mutantních liniích použitých v této studii? Předpokládala bych, že získáme různé odpovědi v této aktivitě u použitých liniích, především u *CrzR* mutantní linie.
- Zajímalo by mne, jak se změni exprese *dilp3* and *dilp5* u liniích použitých v této práci. Máte nějakou teorii týkající se zapojení insulinové signální dráhy?
- Informace v posledním odstavci na straně 31 mi přijdou neúplné, i přesto, že se podle mého názoru týkají důležitých dat. Je zásadní, a to i pro tuto práci, shrnout informace o sacharidovém a lipidovém metabolismu a jeho změnách u testovaných linií, i když testování těchto parametrů nebylo přímo cílem této práce, ale má zásadní význam pro vyvození závěrů získaných dat. Zmíněný odstavec by měl být mnohem lépe popsán a zmínit by se tam autorka měla o všech studovaných mutantech. Popisují se tam data pro *Akh* mutantní linie, ale o těch corazoninových informace chybí. Jsem přesvědčená, že právě vliv těchto mutací na metabolismus sacharidů a lipidů by mohli objasnit důvod resistance *Akh1* mutantů a double mutant (*Akh-CrzR*) vůči hladovění.
- Pokud tomu rozumím správně, práce nebyla provedena na liniích, které by měly sjednocené genetické pozadí. Nemůžou být získané výsledky zatíženy chybou danou rozdílným genetickým pozadím?

### Závěr:

Studentka se naučila metodu imunodekce proteinů ve tkáních, práci s konfokálním mikroskopem a techniku zpracování získaných dat. Byla si schopna osvojit a zavést používání metody dot blot. Navzdory několika detailům a výše zmíněným připomínkám je práce přehledná a konzistentní. Celkově se tedy jedná o zdařilou magisterskou práci a na základě uvedených skutečností práci Kristýny Sládkové doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích, 20. června 2020

Dr. Andrea Bednářová, PhD.