



10. června 2020

**Oponentský posudek na magisterskou práci Bc. Kristýny Sládkové**

Hlavním cílem magisterské práce Kristýny Sládkové bylo zmapovat pomocí imunodetekce distribuci adipokinetického hormonu a korazoninu v mozku *Drosophila melanogaster* a ověřit tak předchozí pozorování z domovské laboratoře, že exprese corazoninu v kruhové žláze je zvýšena na genetickém pozadí Akh1 mutanta. Z výsledků práce vyplynulo, že corazonin je specificky upregulován pouze v kruhové žláze Akh1 mutanta, nikoliv ale u jiných mutantů pro geny zapojené do AKH a corazoninové signalizace. To je překvapivý výsledek, který dal jistě základ dalšímu výzkumu tohoto tématu v laboratoři dr. Sehadové a dr. Žurovce a jehož objasnění může vést ke kvalitní publikaci.

Práce je srozumitelně a přehledně napsaná a obsahuje celou řadu zajímavých výsledků. Milovníka vybroušené češtiny může rušit místy špatná interpunkce nebo větná stavba, po odborné stránce lze však práci máloco vytknout. Metodicky není sice práce příliš bohatá a soustředí se pouze na immunostaining, konfokální mikroskopii a dot blot, ale protože se jedná o poměrně náročné metody, jsou z pohledu magisterské práce jistě dostačující. Obrázky z konfokálního mikroskopu mají vysokou technickou úroveň a kvalitou mohou sloužit jako podklad pro publikaci těchto dat ve vědeckém článku. V kapitole Výsledky oceňuji, že je vždy formou názvu formulována specifická otázka, na kterou měl daný experiment odpovědět, a prezentovaná data pak nabízejí na tuto otázku jasnou odpověď. Práce tak působí jasně a srozumitelně. Diskuse naopak působí trochu chudším dojmem, protože je poměrně stručná a soustředí se především na možnosti krosreaktivity Crz protilátky s Akh1 peptidem, aniž by nabízela další alternativní hypotézy.

Celkově se jedná o velmi zdařilou diplomovou práci, pro kterou navrhuji hodnocení stupněm *výborně*.

Dotazy, které by bylo dobré zodpovědět během obhajoby:

- v úvodu práce se píše o vazbě sulfonylurey na sulfonylureový receptor, není však zřejmé, kde s v buňce sulfonylurea bere a jak se její množství mění v závislosti na

množství ATP v buňce. Taktéž není zřejmé, čím je dán fenotyp Akh1 mutanta (může se například stále vázat na AKH receptor nebo ne). Můžete tyto informace objasnit?

- šlo by expresi Crz případně Akh1 peptidu ověřit i jinak než protilátkou (genetickými metodami)?
- jde z výsledků jednoznačně vyloučit, že za zvýšeným signálem Crz v kruhové žláze u Akh1 mutanta nestojí mutace na genetickém pozadí Akh1?
- z výsledky imunodetekce se můžeme domnívat, že zatímco u přirozeného typu se Crz pouze dopravuje do kruhové žlázy z neuronů v dorsolaterálních oblastech mozku, u Akh1 mutanta dochází v kruhové žláze k jeho akumulaci. Tato akumulace se ale děje pouze za přítomnosti Akh1 peptidu, nikoliv v přítomnosti přirozeného Akh. Je možné, aby spolu Akh1 a Crz fyzicky interagovali, čímž by se Crz stabilizoval? Jakými metodami by šlo tuto hypotézu potvrdit nebo vyvrátit? (popsáno jinými slovy - můžeme si například představit, že ve wild type situaci vede interakce Akh a Crz k degradaci komplexu, ale u Akh1 peptidu k degradaci nedochází vzhledem k nepřítomnosti Leucinu a tedy nemožnosti interagovat s degradačnímašinerií?)
- mohl by být zvýšený signál Crz vysvětlen zvýšenou expresí Crz v abdominální části ventrálního ganglia a jeho následným zvýšeným transportem do kruhové žlázy? Jakým způsobem byste mohla změřit množství mRNA pro Crz ve ventrálním gangliu?

RNDr. Alena Krejčí Bruce, Ph.D.