



Přirodovědecká
fakulta
Faculty
of Science

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice



BIOLC
CENT

Posudek školitele na diplomovou práci

Jméno studenta: Bc. Šárka Podlahová

Název práce: Vliv paralytického jedu lumčíka, *Habrobracon hebetor*,
na svalovou tkáň zavíječe, *Ephestia kuehniella*
a octomilky, *Drosophila melanogaster*

Vedoucí práce: Mgr. Hana Sehadová, Ph.D.

Afiliace vedoucího: Entomologický ústav, Biologické centrum Akademie věd České republiky a Přirodovědecká fakulta, Jihočeská univerzita, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

Předkládaná diplomová práce studuje vliv paralytického jedu lumčíka, *Habrobracon hebetor*, na ultrastrukturu svalové tkáně jak přirozeného hostitele *Ephestia kuehniella*, tak modelového organismu *Drosophila melanogaster* pomocí transmisní elektronové mikroskopie. Šárka navázala na svoji bakalářskou práci, kde pozorovala změny v ultrastruktuře torakální svalové tkáně *D. melanogaster* po *in vitro* aplikaci jedu *H. hebetor*. Nicméně vyvstaly pochybnosti, že pozorované změny byly vyvolány způsobem aplikace jedu a následného zpracování vzorků. V této práci proto Šárka aplikovala jed *in vivo* jednak za použití přirozeného hostitele a jednak přímou injekcí jedu do modelového organismu. Dále optimalizovala techniku zpracování hmyzí svalové tkáně pro elektronovou mikroskopii natolik, že minimalizovala vznik možných artefaktů. Práce dokumentuje vliv jednotlivých pufrů sloužících k ředění aplikovaného jedu a použitých fixačních činidel na vznik artefaktů ve svalové tkáni.

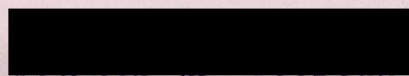
Analýzou nově získaných dat Šárka zjistila, že jed lumčíka *H. hebetor*, přestože působí velmi účinnou paralýzu organismu, ultrastrukturu svalů neovlivňuje. Jed zřejmě brání již přenosu neurotransmiteru (pravděpodobně glutamátu) na nervosvalové ploténce. Zapojení glutamátu v signální dráze působení jedu, chtěla Šárka ověřit pomocí linie *D. melanogaster* se sníženou expresí obou dvou hlavních podjednotek glutamátových receptorů GluRIIA a GluRIIB, které se vzájemně kompenzují. Pro vytvoření této line nejprve vytypovala

potencionální linie se sníženou expresí v každé z podjednotek a míru exprese testovala pomocí klasické i kvantitativní PCR. Vzhledem k absenci linie se sníženou expresí v podjednotce GluRIIB, zatím zapojení glutamátu v signální dráze působení jedu nepotvrdila. V současné době se jí však podařilo najít životaschopnou linii se sníženou expresí v podjednotce GluRIIC a GluRIID, u kterých následně otestuje rychlost nástupu paralýzy.

Kromě zpracování, snímání a vyhodnocování vzorků pro transmisní elektronovou mikroskopii si Šárka osvojila práci s liniemi *D. melanogaster*, včetně křížení, dále techniky PCR a kvantitativní PCR. Všechny zmiňované techniky zvládá samostatně, jakož i grafické zpracování dat a přípravu fotodokumentace v programu Adobe Photoshop. K sepisování diplomové práce Šárka přistupovala zodpovědně a pečlivě a důkladně prostudovala dostupné literární zdroje. Předkládaná práce svým obsahem i formou splňuje všechny požadavky kladené na diplomovou práci, proto ji doporučuji k obhajobě.

V rámci své diplomové práce se Šárka v transmisní elektronové mikroskopii a dalších zmiňovaných technikách molekulární biologie zdokonalila natolik, že ve svém následném doktorském studiu bude naší Mikroskopické a histologické laboratoři významnou oporou. Již nyní se zapojuje do dalších výzkumných záměrů naší laboratoře. Rovněž aktivně přispívá k propagaci vědy účastí na akcích Biologického centra AV ČR jako jsou Dny otevřených dveří nebo Noc vědců a podílí se i na výuce svých kolegů studentů asistencí při praktických cvičeních v rámci kurzů: Metody studia buňky a Vývojová biologie živočichů. Po lidské stránce je Šárka velice klidná a empatická osoba, která je ochotná pomoci, kdykoli je třeba

V Českých Budějovicích dne 23.05.2022



Mgr. Hana Sehadová, Ph.D.