

Posudek na magisterskou práci na téma:

The importance of insulin receptor signaling pathway in physiology of *Ixodes ricinus* ticks

Autorky práce: Bc. Tereza Kozelková

Školitelka: RNDr. Lenka Grunclová, Ph.D.

Oponent: Adam Bajgar, Ph.D., Katedra molekulární biologie a genetiky, Přírodovědecká fakulta JU,

Obecné parametry práce:

Práce je velmi kvalitně zpracována. Je psaná v anglickém jazyce. Její členění není zcela typické (autorka spojila výsledky a diskusi do jedné obsáhlé kapitoly), ale jednotlivé oddíly zcela naplňují očekávané formální požadavky a svou kvalitou jistě převyšují běžný standard obhajovaných magisterských prací. Samotná práce je rozsahu 45 stran textu, jednotlivá tvrzení jsou podložena 63 citacemi převážně odborné a recentní zahraniční literatury. Výsledky práce jsou rozšířeny o obsáhlý suplement o 24 stranách.

Odborná stránka práce:

Cílem autorky bylo charakterizovat klíčové geny insulinové signalizační kaskády u klíštěte *Ixodes ricinus*. K tomuto úkolu bylo využito poznatků získaných nedávno realizovanou transkriptomickou analýzou. Ověřené a anotované sekvence genů pro insulinový receptor, protein kinázu-B AKT a target of rapamycin TOR, byly využity k designu primerů použitých ke kvantifikaci jejich exprese, syntézy RNAi molekul, a tak i jejich funkční charakterizaci. Efekty RNA- interference měly být dále ověřeny podáním inhibitorů těchto proteinů, kdy jeden z nich byl podán injikačně a zbylé dva pomocí umělého krmení samic. Navzdory tomu, že řada provedených experimentů přinesla spíše negativní výsledky, z jejich popisu i zpracování je zcela zřejmé, že byly provedeny na dostatečné kvalitativní úrovni a svědčí o vysoké odborné úrovni studentky, její školitelky i celého vědeckého týmu.

V neposlední řadě je potřeba vyzdvihnout velmi pestrou paletu metod, se kterými se autorka seznámila při realizaci takto vystavěného projektu. Celá práce mě velmi potěšila a přiměla m e zavzpomínat si na časy, kdy mi nestačilo k knock-downu pouze skřížít pár jedinců a trpělivě si deset dní počkat.

Jednotlivé části práce:

ÚVOD: je velmi dobře koncipovaný a srozumitelný. Autorky v něm čtenáře stručně provádí kapitolami, které jsou potřebné pro pochopení motivací ke studiu právě insulinové signalizace u klíšťat. Zde bych možná kriticky podotknul, že by práci takového rozsahu jistě pomohla jedna stránka obecnějšího úvodu, ve kterém by bylo poprvé naznačeno členění úvodu, myšlenky vedoucí k tomuto projektu a členění úvodu. Mimo tuto v podstatě nepodstatnou připomínku není, co by bylo možné vytknout. Jedinou slabinou po formální stránce práce je angličtina, která není vždy zcela perfektní. Nicméně mám pro to velké pochopení a velmi si cením snahy studentky sepsat práci v anglickém jazyce. Jistě to pro ni znamenalo těžší cestu, na které se musela hodně naučit.

CÍLE PRÁCE: jsou jasně definované, stručné, přesně odpovídající jednotlivým oddílům výsledku a realizovatelné.

MATERIÁL A METODY: považuji za nejlépe zpracovanou část práce. S radostí jsem si je přečetl a prošel. Z jejich popisu je zjevné, že se autorka orientuje v jednotlivých pojmech a termínech, a že práci skutečně

vlastními silami realizovala. Jednotlivé metody jsou precizně popsány, tabulky jsou přehledné a graficky zdařilé. Pokaždé, když mi vytanula na mysli nějaká otázka, byla vzápětí zodpovězena.

Z metodického přehledu je vidět, jak velký metodický pokrok byl učiněn za posledních pár let, kdy mám možnost nějaké podobné práce vidět a mám z toho upřímnou radost.

VÝSLEDKY A DISKUSE – abych byl upřímný, tak jsem se nejprve lekl, že práce vůbec diskusi mít nebude, velmi se mi tedy ulevilo, když jsem ji objevil spojenou s výsledky. Není to u magisterských prací zrovna obvyklé, ale v této práci se to projevilo, jako velmi efektivní řešení. Výsledky jsou dobře rozčleněny. Každý oddíl znovu rekapituluje motivace k experimentu i jednoduchý nástin experimentálního designu. To v podstatě nahrazuje jakékoli listování a dohledávání a čtenáři to velmi ulehčuje práci. Výsledky jsou přehledně zobrazeny v grafech, které mají veškeré potřebné náležitosti. Popisky obrázků samy osobě stačí k porozumění výsledků, které zobrazují. V některých případech je ovšem trochu obtížnější rozlišit, jakou práci skutečně odvedla studentka a jaký díl práce je převzatý z citovaných publikací (sekvence genů, součást této práce, ale s citací publikace, kde autorka není v kolektivu autorů). Stejně tak se mi občas stalo, že jsem ztratil pojem, pro který druh klíštěte je uvedena skutečnost platná, ale po dalším čtení se vše vyjasnilo. Možná by bylo vhodnější výsledky a diskusi v jednotlivých odstavcích lépe oddělit.

CONCLUSION – samotné conclusion věcně shrnuje pozorované poznatky. Oceňuji, že se autorka nesnažila výsledky divoce interpretovat a vždy (dle mého soudu) volila nejpravděpodobnější vysvětlení a to i v případech, že vyžadovalo jistou míru sebekritického náhledu.

Závěrem – práce se mi velmi líbila, je zpracovaná na neobvykle vysoké úrovni. Představuje velké množství práce a jistě posloužila autorce k tomu, aby získala obstojnou profesní zkušenost.

Přesto mám pár otázek, které by mohly rozvinout diskusi témat, často mírně spekulativních a vhodných k obecnější diskusi:

A) Problém spojený s používáním systemicky aplikované dsRNA spočívá v jejím působení na veškeré tkáně v organismu. Mohla by se autorka zamyslet, kolik z pozorovaných fenotypů by bylo možné vysvětlit utlumením insulinové signalizace třeba jen v tukovém tělese?

B) Vidím jistou podobnost ve spouštění zrání ovarií u klíštěte a u komárů. U komárů je známý mechanismus indukce zrání ovarií potravou i jeho aktivace hormonální signalizací (juvenilní hormon, insulin-like peptidy, ecdysone) je možné, že je tento mechanismus konzervovaný a charakteristický pro všechny druhy arthropod s velkou jednorázovou snůškou?

C) Je prokázáno, že protilátky produkované hostitelem a přijaté v potravě s krví mohou ovlivnit aktivitu receptorů v těle ektoparazita? Má taková terapie alespoň teoretický potenciál fungovat?

D) Byla u klíštěte, nebo obdobného živočicha úspěšně aplikována transgeneze pomocí techniky CrispCas9, je to podle autorky možné, případně jakým komplikacím spojeným například se složitým životním cyklem by bylo potřeba čelit? Jak by to šlo využít v kontextu této práce.