



Mgr. Eva Doleželová, Ph.D.
Biologické centrum AV ČR
Parazitologický ústav, České Budějovice
Email: dolezelova@paru.cas.cz

Oponentský posudek diplomové práce

Autor DP: Bc. Nikola Kaislerová

Oponent DP: Mgr. Eva Doleželová, Ph.D.

Název DP: Úloha Adenylát kinázy 1 v aktivaci a metabolismu imunitních buněk larev *Drosophila melanogaster*

Formální náležitosti:

Diplomová práce byla vypracována pod vedením doc. Mgr. Tomáše Doležala, Ph.D. a Mgr. Pavly Nedbalové. Autorka předložila práci, která po formální stránce splňuje požadavky kladené na diplomovou práci. Úvod dostatečně shrnuje tematiku imunitního systému drozofily. V experimentální části autorka úspěšně zvládla řadu molekulárních metod a metod využívaných ve fyziologii bezobratlých, jako jsou disekce tkání, izolace RNA z těchto tkání, příprava cDNA, qPCR, křížení drozofil a následné vyhodnocování získaných fenotypů, včetně počítání lamelocytů, testu přežití, či příprava a analýza metabolomických dat z hemolymfy.

Připomínky:

Str. 6 – Není vysvětlena zkratka IMD.

Str. 13 – Obrat „náš pohled na věc“ není vhodný do vědecké práce :).

Str. 13 – Nejasná formulace, prosím o vysvětlení, jedná se o větu: „Prokázalo se, že Ak1 je u drozofily exprimována od larválního stádia a její aktivita spolu s touto expresí výrazně roste od embryonálního stádia až do dospělosti.“

Str. 15 – Prosím o vysvětlení obrázku 4, nedostatečný popis. V dané citaci jsem obrázek nenašla.

Str. 17 – **ZÁSADNÍ PŘIPOMÍNKA** – nikde v textu není uvedeno, v jaké fázi vývoje byla indukována RNAi, a tím spuštěna degradace Gal80.

Str. 18 – Prosím o popis a vysvětlení genotypu linií drozofil (1446, 1447, 1499, 1498).

Str. 21 – Množství RNA by mělo být uvedeno s koncentrací.

Str. 26 – Počet hemocytů nebyl stanoven vzorcem “Neubauer improved”.

Str. 27 – Obr. 5: Panely A, B, C by měly být popsány tak, aby na první pohled bylo vidět, že se jedná o jiné konstrukty – panely A a B se popisem neliší.

Str. 36 – V textu není vysvětlena zkratka IMP.

... a dále drobné překlepy ve formě chybějících písmenek ve slovech, čárek nebo naopak nadužívání čárek ve větách.

Obecně bych autorce doporučovala uvádět získané hodnoty měření i v textu – sekce Výsledky. Pro čtenáře je velice nepraktické zjištěné hodnoty odečítat jen z grafů a obrázků, což mnohdy ani není spolehlivě možné provádět.

Dotazy:

1. Ověření efektivity RNAi: Prosím o vysvětlení, proč není detekován úbytek *Ak1* po 18 hodinách bez infekce? Pokud k poklesu mRNA nedochází v normálních podmínkách (bez infekce), je tedy možné tvrdit, že RNAi funguje? Byla tato měření opakována v nezávislých biologických replikátech?
2. Jak si autorka vysvětluje rozdílný pokles mRNA *Ak1* po RNAi u infikovaných larev linie 1446 a 1447?
3. V testu přežívání je uvedeno, že byly použity pouze slabě infikované larvy. To je pro vědecký text příliš vágní popis. Prosím o vysvětlení, jak to bylo zjišťováno.
4. Sledovali jste v testu přežívání drozofil i úspěšné vylíhnutí parazitoidní vosičky?
5. **ZÁSADNÍ PŘIPOMÍNKA** – nikde v textu není uvedeno, v jaké fázi vývoje byla spuštěna RNAi. Může přesun z 18 °C do 25 °C ovlivnit také infekci – vývoj parazitoidní vosičky?
6. Byla sledovaná exprese *Ak1* po infekci parazitoidními vosičkami v 18 °C? Má teplota vliv na expresi *Ak1*?
7. V úvodu na straně 10 je zmíněno: „Poměr ATP:AMP je za normálních podmínek přibližně 100:1“. Jak si autorka tedy vysvětluje hodnoty získané z metabolické analýzy, kde ATP a AMP u kontrol dosahují řádově stejných hodnot (např. 180 ng/vzorek u ATP a 500 ng/vzorek u AMP – kontrolní larvy *Srp*)? Byly například změřeny kalibrační vzorky?
8. Prosím o možné vysvětlení jevu, kdy se při infekci zvyšují hladiny všech adenosin-fosfátů – AMP, ADP, ATP obr.9.

Hodnocení práce:

Předkládaná práce na mě celkově působí poněkud uspěchaným dojmem. Na druhé straně chápu, že na magisterskou práci je poměrně málo času. Práce i přes veškeré moje výhrady splňuje nároky kladené na diplomové práce a **doporučuji** ji k obhajobě.