BIOLOGICKÉ CENTRUM AV ČR, v. v. i.
Entomologický ústav
adresa: Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice
telefon: +420 387 775 211
fax: +420 385 310 354
IČ: 60077344 | DIČ: CZ60077344
číslo účtu: 6063942/0800, Česká spořitelna, a.s.
www.entu.cas.cz | e-mail: entu@entu.cas.cz

ŠKOLITELSKÝ POSUDEK

Doktorská práce Mgr. Tomáše Krůčka „Alternativní telomerické kompenzační mechanismy jako způsob adaptace telomer vůči stresovým podmínkám v průběhu evoluce""

Doktorská práce Tomáše Krůčka byla celkově zaměřena na aktivitu telomerických kompenzačních mechanismů, a to s primárním cílem vysvětlit, jaké jsou možné příčiny četných ztrát hmyzí telomerické sekvence TTAGG v průběhu evoluce hmyzu. Sekvence telomerické DNA bývá totiž obvykle značně konzerovaná, např. u všech mnohobuněčných živočichů je telomerickou sekvencí TTAGGG, avšak s výjimkou hlístic a bezobratlých. Ačkoliv je u bezobratlých telomerickou sekvencí sekvence TTAGG, u četných hmyzích řádů je pozorována ztráta této sekvence, s tím, že telomerická sekvence, která v daných řádech nahrazuje sekvenci TTAGG není povětšinou dosud identifikovaná. Extrémním příkladem častých ztrát sekvence TTAGG jsou brouci, v rámci nichž je variabilita v přítomnosti/nepřítomnosti sekvence pozorována i porovnáním jednotlivých čeledí. Časté změny v celé telomerické struktuře, které lze dovodit z těchto pozorování, jsou vskutku zajímavým fenoménem. Je třeba vzít v potaz, že alespoň na příkladu obratlovčích telomer bylo ukázáno, že přítomnost specifické sekvence DNA na chromosomálních koncích je zcela zásadní pro formaci shelterinového komplexu a formace shelterinového komplexu je zase zcela zásadní pro udržení stability telomer, a tím i celého genomu a životaschopnosti daného organismu. Lze se tedy ptát, čím je hmyzí telomera tak zvláštní, že toto pravidlo zjevně porušuje, když umožňuje až příliš časté změny telomerické sekvence. Jedním z možným vysvětlením tohoto jevu, ze kterého Tomáš vycházel, bylo, že TTAGG sekvence je u části hmyzích řádů reliktní a již nefunkční sekvencí, nacházející se buď v telomerách či subtelomerických oblastech a že ve skutečnosti se v těchto řádech vyskytuje jiná telomerická sekvence, tak jak je to patrno u bource B. mori. Nicméně v rámci Tomášovy dizertační práce bylo ověřením telomerázové aktivity napříč hmyzem prokázáno, že toto vysvětlení je neplatné a že TTAGG je u většiny hmyzu skutečně funkční telomerickou sekvencí, s tím, že časté změny v telomerické kompozici budou patrně skutečně umožněny vysokou mírou flexibility hmyzího shelterinu. V druhé části práce se Tomáš věnoval vlivu stresu na aktivitu telomerických mobilních elementů drozofily, s tím, že významnou měrou studoval vliv teplotního stresu. Ačkoliv byly experimenty s teplotním stresem z počátku skutečně velmi slibné a dávající velmi konzistentní informace o stimulaci mobilních elementů, po jisté době pro nás tehdy z neznámých důvodů experimenty fungovat přestaly. Až urputná byla Tomášova snaha zjistit daný problém, což jsem již tehdy hodnotila jako velkou chybu a opakovaně doporučovala Tomášovi v daných experimentech nepokračovat. Vskutku, navzdory velkému úsilí a obrovské časové ztrátě, tyto experimenty Tomášovi publikovatelné výsledky nepřinesly. Paralelně s teplotním stresem, Tomáš u telomerických elementů vyhodnocoval také účinky volných radikálů vyvolaných parakvatem. Ve spolupráci s dalšími členy našeho týmu došel k poměrně

významnému závěru, že volné kyslíkové radikály působí na telomery ve stylu hormeze. Hormetický efekt parakvatu Tomáš prokázal i na aktivitě antioxidačních mechanismů. Významnou část výsledků s ohledem na působení volných kyslíkových radikálů získal také při své stáži v laboratoři Dr. R. Kuehnleina v Gotingenu, kde prokázal vliv nízkých dávek parakvatu na energetickou homeostázi. Výsledky této části byly původně zaslány jako součást rukopisu do Journal of Insect Physiology, avšak na doporučení oponentů byla tato část z rukopisu vyňata a bude publikována separátně.

Tomáš byl historicky mým prvním doktorandem a až do loňského roku Tomáš provázel můj tým od prvopočátku. Existuje několik málo mých studentů, kterým jsem skutečně nesmírně vděčná a Tomáš je jedním z nich. Tak, jako všichni tito studenti, i Tomáš nejenže prokázal píli, vytrvalost a chuť poctivě pracovat, ale taktéž byl, a to zejména na samotném počátku našeho výzkumného týmu, mou velkou oporou. A upřímně - za to patří Tomášovi můj obrovský dík.

RNDr. Radmila Čapková Frydrychová, PhD.

V Českých Budějovicích, 26. 11. 2017