



Přírodovědecká
fakulta
Faculty
of Science

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

Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci

Jméno studenta: Bc. Adéla Danielová

Název práce: Charakteristika přeměny larvární tukové tkáně v průběhu metamorfózy u *Drosophila melanogaster*

Vedoucí práce: Mgr. Adam Bajgar, Ph.D.

Oponet: Mgr. Hana Sehadová, Ph.D.

Afiliace oponeta: Entomologický ústav, Biologické centrum AV ČR,
Branišovská 31, 370 05 České Budějovice
a
Přírodovědecká fakulta, Jihočeská universita,
Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

Magisterská práce Bc. Adély Danielové se zabývá morfologickou přeměnou tukové tkáně v průběhu metamorfózy a následného vývoje u octomilky, *Drosophila melanogaster*. Studentka jednak analyzovala změnu ve velikosti larvárních adipocytů a změnu v počtu a velikosti v nich obsažených lipofuscinových granulí a lipidových kapek. Dále studovala míru exprese genů zapojených v mobilizaci, transportu a metabolismu lipidů a v syntéze a degradaci ceramidu.

Vlastní práce obsahuje 79 stran. Skládá se z anotace, úvodu, cílů práce, části materiál a metody, výsledků, diskuze, závěru a seznamu použité literatury. Úvod do problematiky je velice obsáhlý, zaujímá 25 stran textu. Detailně popisuje morfologii a fyziologii tukové tkáně savců včetně transportu a mobilizace lipidů a role makrofágů v imunitní reakci, regulaci homeostáze a rozvoji inzulinové rezistence. Dále nás seznamuje s rolí *D. melanogaster* jako modelového organismu. Teprve na straně 18 se dočteme o vlastním tématu diplomové práce, tukovém tělese *D. melanogaster*. Přestože je úvod čtivý a data na sebe logicky navazují, obrovské množství informací, odvádí čtenářovu pozornost od hlavního tématu práce. Vzhledem k tomu, že je v textu popisována řada signálních drah, ocenila bych, zařazení schematických nákrešů, které by čtenáři usnadnily pochopení vzájemných souvislostí jako například srovnání inzulinové rezistence u savců a *D. melanogaster*. Nicméně je patrné, že studentka zpracování problematiky věnovala velké úsilí a nastudovala značné množství odborné cizojazyčné literatury. Doporučila bych úvod zjednodušit tak, aby byl chápán i širší veřejností a vydat ho jako populární článek.

Z metodického hlediska práce zahrnuje, přípravu a histologické barvení parafinových řezů, zhotovení polotenných a ultratenkých řezů pro elektronovou mikroskopii a qPCR. Studentka s naučila ovládat světelné mikroskopy Olympus IX71, Leica DM6 B, který využívá snímacího systému umožňující rekonstrukci 3D obrazu (tzv. Thunder Imager 3D), dále pak transmisní elektronový mikroskop JEM-1400 JEOL. Osvojila si práci se softwarem Fiji (Image J) a Graphpad Prism.

K předkládané magisterské práci mám následující připomínky a dotazy a prosím autorku o jejich komentář:

1. Popis měření velikosti adipocytů, lipofuscinových granulí a lipidových kapek by bylo vhodné detailněji popsat a pro názornost ukázat příklad měření (např. printscreen obrazovky Fiji analýzy). Z textu není jasné, zda byl měřen průměr, poloměr či obsah jednotlivých studovaných útvarů. To, že se jedná o délkovou míru, lze odvodit pouze z poznatku, že naměřené hodnoty jsou udány v μm . Vyjádřením, že měření bylo prováděno „ručně“ je tedy pravděpodobně míněno manuálně s využitím nástroje „Straight line“ v softwaru Fiji? Může studentka blíže specifikovat postup při měření a proč nebyla raději měřena plocha průřezu jednotlivých složek?
2. Rovněž při počítání lipofuscinových granulí nebo lipidových kapek je pouze uvedeno, že sumarizace byla prováděna „ručně“. Zde by bylo možno pro zjednodušení využít nástroje softwaru Fiji, a to buď „Cell counter“ nebo funkce „Analyze particle“, což by v případě lipofuscinových granulí a lipidových kapek výrazně zjednodušilo stanovení jejich počtu i obsahu jejich průřezů.
3. V metodické části postrádám specifikaci použité drozofilí linie, dále specifikaci podmínek pro mikroskopování, zejména pak použitého objektivu u světelné mikroskopie. Přesnější výraz pro Malloryho trichrom barvení je Masson Trichrome barvení. U použitých softwarů chybí jejich bližší specifikace jako např. citace, ve které byl software představen nebo výrobce - např. Fiji (Schindelin et al., 2012).
4. Vzhledem k tomu, že fotodokumentace je významnou součástí výsledků, konečné zpracování fotografií nedosahuje kvalitní publikační úrovně. Popisky fotografií a měřítko jsou velice špatně čitelná, použitý font je nesourodý, rozestupy mezi snímky buď chybí nebo jsou velice nejednotné. Na fotkách nejsou označeny jednotlivé struktury. Např. Obrázek 3 – pro lepší názornost by bylo dobré vytýčit hranici 1-2 adipocytů, označit jejich jádra a zvýraznit měřítko.
5. V diskusi bych doporučila získané výsledky pro větší přehlednost shrnout ve schematickém znázornění zachycujícím změny v počtu a velikosti jednotlivých složek tukového tělesa ve vztahu k poklesu či zvýšení exprese zkoumaných genů. Prosím studentku o návrh takového schematického znázornění.
6. Zaujalo mě složení použité Bouinovi fixáže (BHS), která je založena na bázi kyseliny pikrové. Její zastoupení ve fixáži popsané v diplomové práci však dosahuje pouze hodnoty 0,9%. Je to takto správně?
7. V textu se opakovaně vyskytují chyby, které by se při zpracování magisterské práce již stávat neměly: Jedná se o skloňování latinských názvů (např. Obsah – Práce s *Drosophilou*, Úvod str. 1 ...zavedení *Drosophily melanogaster*, ... atd.). V celém textu jsou pak chybně užívány výrazy *drosophila*, *drosophilí*, *drosophile* – správný výraz v češtině, který je možno i skloňovat zní „drozofila“. Autorka rovněž nezkracuje rodová jména názvů organismů v případě, že jsou zmíněna v textu opakovaně. Často dochází k citování literárního zdroje, jež má tři autory tak, že jsou uvedena jména všech tří autorů a rok. Pravidlem je, že od tří autorů se již používá citace ve formě (příjmení prvního autora et al., rok). Také pozor na použití množného čísla od slova *granule* – 2. pád množného čísla „granulí“ nikoli „granul“. Řada gramatických chyb se nachází již v anotaci.

Práce představuje velice zajímavé dosud pouze částečně probádané téma změny tukového tělesa *D. melanogaster* během metamorfózy. Získané výsledky přináší hodnotný vhled do této problematiky, proto je škoda, že si autorka na výsledném zpracování práce nedala více záležet. Nicméně i přes uvedené nedostatky předložená práce řeší stanovené cíle. Získaná data autorka shrnuje v diskusi a srovnává je s dosavadními výsledky, přičemž fundovaně odpovídá na otázky, které vyvstaly. Práce i po formální stránce splňuje veškeré požadavky kladené na magisterskou diplomovou práci a doporučuji ji k obhajobě.

V Českých Budějovicích dne 12.1.2022

Hana Sehadová

.....
podpis