



Prof. RNDr. Dalibor Kodrík, CSc.
Biologické centrum v.v.i, AV ČR
Entomologický ústav
Branišovská 31
370 05 České Budějovice
Telefon: přímá linka 387 775 271, ústředna 387 771 111
Fax: 385 310 354, E-mail: kodrik@entu.cas.cz

Posudek na magisterskou práci Štěpánky Tomkové – Imunohistochemická lokalizace adipokinetického hormonu a jeho receptoru v centrální nervové soustavě larvy a dospělé bource morušového (*Bombyx mori*)

Předkládaná práce mapuje výskyt adipokinetického hormonu (AKH) a jeho receptoru v endokrinní žláze corpora cardiaca a v různých částech mozku u bource morušového. Práce má klasické členění, které se od takové magisterské práce očekává. V Úvodu autorka shrnuje základní poznatky o AKH, jeho funkcích v buněčné signalizaci. Důležitá je kapitola Materiál a metody, kde jsou podrobně popsány použité imunohistochemické metody. Výsledky jsou dokumentovány velmi kvalitními fotografiemi imunoreakcí a schémata CNS s vyznačením pozitivně reagujících buněk. V Diskuzi pak autorka vysvětluje získané výsledky a srovnává je s literárními údaji. Práce obsahuje také Závěr a Seznam použité literatury. Příloha pak obsahuje podrobnou zprávu o autorčině stáži na padovské Univerzitě v Itálii – ta je psána formou rukopisu pro publikaci.

Autorka získala zajímavý soubor dat, který zapadá do současných poznatků o daném tématu. Práce nicméně osahuje řadu formálních prohřešků – neobratné formulace vět, stylistické problémy, nejednotná citace literatury atd.

K práci mám následující připomínky, poznámky a dotazy:

- str. 1- AKH rodina dnes zahrnuje asi 60 členů, ne 30
- str. 1 – „mají řadu dalších pleiotropních účinků“ – neobratná formulace plynoucí ze špatného pochopení slova pleiotropní
- str. 1 – poslední věta prvního odstavce „Jeho homology byly dále nalezeny...“ Pokud se to týká homologů AKH, tak je seznam řádů zcela nedostatečný
- str. 3 – poslední věta prvního odstavce: tady má zřejmě být fosfolipáza C, ne fosfokináza
- str. 4 a dále v celé práci se objevuje nejednotná nomenklatura AKH. Dnes se používá 5 písmenný kód – tedy např. Drome-AKH (dříve se používal 3 písmenný). Dlužno poznamenat, že i v literatuře s tím má řada autorů problém
- str. 5 – první řádek – taxonomické kategorie se v češtině píší malým písmenem
- str. 6 nahoře – se píše, že u jednoho druhu se vyskytuje i více AKH-R. Můžete to okomentovat?
- str. 6 dole – je zde odkaz na Obr. 5, ten je ale uveden až na str. 10
- str. 6. píše se zde, že Hez-HrTH (má být Helze-HrTH) je podobný AKH. Není zde zcela jasné, co se tím míní. HrTH jsou hormony AKH rodiny
- str. 7 – poslední 2 věty patří do cílů práce nebo měly alespoň tvořit samostatný odstavec
- str. 10 – píše se zde, že firma Bachem připravila protilátku. Je to pravda?
- str. 10 - ELISA je zkratka a píše se velkými písmeny
- str. 11 kap. 3.3.1 – tady má asi být suboesophageální ganglium
- str. 13. kap. 3.4.2 – její obsah neodpovídá názvu (nebo naopak)
- str. 16 – co jsou to duplicitní protilátky?
- str. 16-18 řada vět patří spíše do Metodiky než do výsledků

- str. 29 – některé věty zde opakují předchozí text a také viz předchozí bod
- str. 31- první odstavec prakticky opakuje Výsledky
- str. 32 dole – je zde několik nepřesností: píše se zde, že aplikace řady toxinů nevede ke zvýšení hladiny AKH v corpora cardiaca, což je doloženo převážně několika pracemi naší skupiny. To je sice částečně pravda, ale je to vytrženo z kontextu. Uvedené toxiny zvyšovaly hladinu AKH v hemolymfě a někdy i v mozku (tedy včetně c. cardiaca), navíc nebyly všechny podávány v potravě.
- str. 33, 1. odstavec, poslední věta - Lze sledovat... Tomu moc nerozumím.
- str. 33 dole - uvedené konstatování, že AKH protilátky nereagují s tukovým tělesem, není až tak překvapivé, ale nepřítomnost reakce s anti-AKH-R je divná. Můžete to okomentovat?
- str. 35 - Závěr vyznívá dosti rozpačitě – zde by měly být jasně a stručně uvedeny získané výsledky: tedy ne co jste dělala, ale co jste zjistila
- Literatura (vděčná to kapitola pro každého oponenta – vždy se tam najdou nějaké chyby): Některé časopisy jsou uvedeny kurzívou jiné nikoliv, některé zkratky časopisů jsou bez teček jiné s tečkami, latinské názvy druhů jsou kurzívou i normálním písmem.

Závěrem:

Autorka potvrdila u bource morušového přítomnost AKH nejen v corpora cardiaca, ale také v různých částech mozku. Tento fakt je známý z několika hmyzích druhů, ale ukazuje se, že je pravděpodobně druhově specifický – např. u drozofily nebyla přítomnost AKH v mozku prokázána vůbec. Za získané výsledky by si autorka zasloužila výborné hodnocení, nicméně úlohou oponenta je posoudit i formální stránku práce, která trochu pokulhává za získanými daty. Takže jednoznačně práci doporučuji k obhajobě jako jeden z podkladů k získání magisterského titulu. O konečné známce se rozhodnu až po přednesené obhajobě.



Č. Budějovice, 7. 5. 2019

Dalibor Kodrík - oponent



RNDr. Veronika Urbanová, Ph.D.
Biologické centrum AV ČR, v.v.i.
Parazitologický ústav
Branišovská 31
370 05 České Budějovice

Oponentský posudek na magisterskou práci Bc. Štěpánky Tomkové

„Imunohistochemická lokalizace adipokinetického hormonu a jeho receptoru v centrální nervové soustavě larvy a dospělce bource morušového (*Bombyx mori*)“

V práci Štěpánka Tomková řeší lokalizaci adipokinetického hormonu a jeho receptoru u larev a dospělců bource morušového. Práce má 71 stran, přičemž samotná práce je sepsaná na 46 stranách a zbytek tvoří příloha s výsledky ze zahraniční stáže.

Autorka si během magisterské práce osvojila imunohistochemické metody, včetně práce s fluorescenčním a konfokálním mikroskopem, následované analýzou získané fotodokumentace. Členění práce je logické a přehledné. Autorka splnila vytyčené cíle práce a výsledky sepsala a diskutuje s množstvím literárních zdrojů.

Během studijní stáže Erasmus+ v laboratoři Neurologie a Chronobiologie v Padově autorka zvládla další metody molekulární biologie jako je příprava genetických rekombinantních vektorů s následnou transfekcí do embryonálních buněk *Drosophila melanogaster*. Dosažené výsledky jsou v práci rovněž popsány.

K formální stránce práce mám tyto připomínky:

Práce je sepsaná s minimem chyb a překlepů, svým rozsahem odpovídá cílům práce autorky. Členění práce je logické a přehledné. Seznam použité literatury je rozsáhlý. Zde mám malou výtku, některé názvy použitých publikací jsou uvedeny kurzívou, jiné nikoli, mělo by to být sjednoceno.

V úvodu autorka přehledně a srozumitelně popisuje adipokinetické hormony a receptory hmyzu, jejich funkci, lokalizaci v tkáních a na jakém principu fungují.

Cíle práce jsou jasně stanoveny.

Kapitola materiál a metody je přehledně napsaná, ale mám zde několik doplňujících dotazů:

Kapitola 3.3.1. Tkáně byly po fixaci a ošetření kolagenázou dehydratovány a hned rehydratovány. Jaký je princip dehydratace následovaný okamžitou rehydratací tkání?

V kapitole 3.2.1. autorka píše, že připravené protilátky byly testovány metodou Elisa. Co jste v tomto testu použili jako antigen?

Výsledky jsou přehledně sepsané, doplněné obrazovou dokumentací a přehlednými schematickými ilustracemi, které pěkně shrnují dosažené výsledky.

Zde mám několik dotazů.

- 1) Protilátky proti adipokinetickému hormonu a receptoru byly testovány i na ostatních tkáních včetně tukového tělesa u dospělců a larev *B. mori*, přičemž zde nebyl zaznamenán žádný pozitivní signál. Na obrázku č. 4 je ukázána vysoká genová exprese adipokinetického receptoru v tukovém tělese larev. Jak si autorka vysvětluje, že se zde nepodařilo receptor lokalizovat pomocí protilátek?
- 2) Imunolokalizace Bommo-AKH a AKH-R u larev byly provedeny na totálních preparátech (lokalizace Bommo-AKH i na řezech). Proč tedy autorka použila ke kolokalizaci Bommo-

AKH a AKH-R paraplastové řezy a kolokalizaci neprovedla na totálních preparátech larvy *B. mori*?

- 3) Individuální lokalizace Bommo-AKH a jeho receptoru u dospělců bource ukázaly pěkné výsledky. Z jakého důvodu nebyla provedena kolokalizace Bommo-AKH a AKH-R i v hlavovém gangliu dospělého?

V diskuzi autorka srovnává lokalizaci adipokinetického hormonu a adipokinetického receptoru v centrální nervové soustavě hmyzu a jejich potencionální funkci. Zde mám malou připomínku, zmiňuje-li se v textu název či zkratka genu- píše se malými písmeny a v kurzívě.

Závěrem:

Autorka velmi dobře zvládla metody mikroskopických technik včetně imunolokalizací vybraných molekul. Získané výsledky přehledně graficky zpracovala. Během zahraniční studijní stáže si osvojila rovněž některé molekulární metody. Jsem přesvědčena, že předložená práce splňuje nároky Přírodovědecké fakulty JU na magisterskou práci, proto ji doporučuji k obhajobě, jako jeden z předpokladů udělení titulu Magistr.

V Českých Budějovicích 14. 5. 2019


Veronika Urbanová