



**KATEDRA MOLEKULÁRNÍ BIOLOGIE A GENETIKY**

**Přírodovědecká fakulta**

**Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích**

Branišovská 31, 37005 České Budějovice

### **Posudek na magisterskou práci bc. Pavla Steffala**

Práce jako celek je standardně členěná. Všechny obvyklé části mají odpovídající rozsah. Text se snadno čte a nezaznamenal jsem zvýšené množství závažných gramatických chyb a překlepů. Svým rozsahem 38 stran samotného textu práce odpovídá běžným požadavkům. Počet 68 citací se mi zdá naprosto uspokojivý.

### **ÚVOD**

Již po přečtení několika prvních vět (poděkování) a úvodu je čtenáři jasné, že se jedná o poměrně svérázné pojetí celé práce. Musím přiznat, že mě jinakost tohoto textu – od obvyklých bakalářských a magisterských prací nadchla. Autor nás za použití volného, však zábavného jazyka didakticky provádí jistou linkou skrze své myšlenky a objasňuje tak v úvodu své motivace se touto problematikou zabývat. Z textu je zřejmé, že si student dal práci a jednotlivým podkapitolám skutečně nejprve porozuměl, než se dal do psaní textu samotného. Celkově ho za takový přístup chválím a úvod považuji za velmi zdařilý, věnující se všemu podstatnému k pochopení následujících oddílů.

### **CÍLE PRÁCE**

Cíle práce jsou výstižné a stručné – bez výhrad.

### **METODY**

Část metod je poměrně stručná, ale přináší dostatečné množství informací potřebných pro zopakování experimentů. Některé věty a formulace mě při čtení velmi dobře pobavily. Jediné, co mi v metodice chybělo, jsou sekvence primerů a identifikace použitého housekeeping genu. Případně detailnější popis reversní transkripce a následného DNAsování, případně statistického vyhodnocení signifikance. Orientaci ve složitějších experimentech by jistě pomohlo přehledné schéma experimentů, případně časová linka.

### **VÝSLEDKY**

V této části nás autor provází rozumně členěnými výsledky, které ovšem trpí několika neduhy komplikujícími jejich čtení. Navzdory tomu, že většina výsledků je interpretována slovně a text je pěkně provázan odstavci, které vysvětlují experimentální logiku, nedostatečné popisky v grafech samotných v kombinaci s jejich legendami znesnadňují orientaci ve výsledcích a jejich porozumění vyžaduje dostatek zkušeností, zpětného dohledávání, ale někdy i fantazie. Po vynaložení trochy snahy jsem ale všemu porozuměl, takže musím projevit i radost z toho, že takto nesnadný experimentální systém po dlouhé době optimalizace konečně začal velice zajímavé a relevantní výsledky.

Kombinace unikátní esejí společně s genetickými nástroji v drosophile tak poměrně snadno umožnila rozkrytí vlivu několika na sebe navazujících a interagujících regulátorů. Experimentální systém sestávající se ze zhoršení pozorovaného fenotypu na aminokyseliny chudou dietou a jeho rescue pomocí mutantního genotypu, tak umožňuje identifikovat klíčové hráče kaskád zodpovědných za detekci nedostatku aminokyselin.

Autor pomocí několika genetických mutantních linií prokázal, že fenotyp spojený s narušenou aktivitou signální dráhy NOTCH může být ovlivněn nedostatkem aminokyselin v dietě, že můžeme tento nedostatek nahradit dodáním jednotlivých aminokyselin a analyzovat, které jsou ty klíčové. Dále ukázal, že je tento fenotyp ovlivněn inhibicí TOR přidáním rapamycinu do diety a mutací SLIF a downregulací SIRT1 a to dokonce tkáňově specificky. Získané výsledky posuzuji jako velmi zajímavé a jsem si jistý, že po doděláních několika málo experimentů mohou sloužit, jako podklad pro zajímavou publikaci. Hlavní význam práce ale spatřuji v zavedení nového nástroje, který může do budoucna posloužit jako fenotypová analýza k identifikaci mnoha jiných hráčů ovlivňujících tuto kaskádu.

Škoda, že forma zpracování trochu sráží významnost těchto výsledků. V tomto ohledu předložený text nesporně splňuje požadavky kladené na závěrečnou magisterskou práci.

## DISKUZE

Diskuze je podobně jako úvod psán velmi srozumitelným jazykem. Z textu je zřetelné, že se autor v problematice orientuje a dokáže kriticky nahlížet výsledky již publikované, stejně tak jako svoje vlastní. Diskuze celkově působí velmi dobrým dojmem a autor se v ní zabývá i nastíněním dalších experimentů, nutných k zodpovězení otázek, které se při realizaci tohoto projektu objevily.

## CELKOVĚ

Celkově hodnotím práci velice pozitivně. Autor má k psaní práce i realizaci projektu velmi osobitý a sympatický přístup. Práce ve všech částech splňuje kladené předpoklady a já jí bez pochyb doporučuji k obhajobě. Kvalitu práce bohužel mírně sráží nepřehledné zpracování výsledků a jeho popisky. Z toho důvodu lehce vážám s udělením klasifikace „výborně“. O tom, že si tuto známku autor zaslouží se ovšem rád nechám přesvědčit zdařilou obhajobou a zodpovězením následujících otázek.

## OTÁZKY

Q1 – Mohl by autor vysvětlit pojem epistázy a jak by mohl tento pojem souviset s prezentovanou prací (navrhnout experiment k testování)?

Q2 – V práci bylo zmíněno, že je NOTCH signalizace zapojená hlavně v signalizaci dvou sousedních buněk. Existuje nějaký příklad signalizace NOTCH na větší vzdálenost? Jak by to mohlo ovlivnit náhled na problematiku práce?

Q3 – V práci se řeší, zda jsou sledované efekty buněčně autonomní, nebo ne. Jakými přístupy by bylo možné to otestovat? Lze tyto přístupy použít i v kontextu tohoto experimentálního systému?

Q4 – V práci je zmíněn efekt aminokyselinami chudé diety na zhoršení fenotypu způsobeného NOTCH mutací. Notch se ale podílí na celé řadě procesů i během vývoje. Dá se tedy sledovat podobný dopad i na

nějaké jiné morfologické změny a sledovat tak dopad koncentrace aminokyselin v dietě v kontextu dvou sousedících buněk?

Q5 – V experimentu se Sirt1 RNAi v křídelním disku u NOTCH heterozygotního mutantu (Obr.14) dochází k extrémnímu nárustu počtu chlupů v deltě dané cévy (průměrně 44) a to také v podstatě nezávisle na dietě. Jak by autor takový graf interpretovala, pokud by ho měl vyhodnotit bez jakýchkoli očekávání. Jak je možné, že double mutant pro Sirt1 nemá ani zdaleka tak signifikantní dopad na sledovaný fenotyp jako tkáňově specifická Sir1 RNAi (založeno na Publikaci Horvath M. et al. 2016, z vaší laboratoře)?

V Českých Budějovicích dne 3. května 2018 – Mgr. Adam Bajgar Ph.D.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Adam Bajgar', with a stylized flourish at the end.

## Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci

Pavel Steffal: **Studium senzitivity signální dráhy přes receptor Notch na aminokyseliny v potravě**

Oponent: David Doležel, PhD  
Biologické centrum AV ČR, Entomologický ústav  
Jihočeská Univerzita v Č.B., Přírodovědecká fakulta

### Formální stránka:

Jedná se o práci členěnou klasickým způsobem, která na 46 stranách obsahuje patřičný úvod, materiál, metody, výsledky a diskusi. Obecně lze říci, že je práce psána velmi stručně, ale čtivě. Jednotlivé úseky na sebe logicky navazují jak na úrovni vět, tak odstavců. Což osobně považuji za podstatnější (a náročnější), než vytvoření dlouhých textů. Po jazykové stránce je práce rozhodně nadprůměrná, pouze obsahuje relativně často 'anglikanismy'.

Občas je to ale stručné až příliš. Zejména v případě legendy obrázků, kdy v lepším případě lze dohledat odpovídající informace v textu (ale pracně). To už je ale na škodu. Mnohdy ale obrázky obsahují informace, které jsou k dané práci relevantní, ale kvůli chybějící legendě se tato informace ke čtenáři nedostane. Jako oponentovi mi vůbec nevadí přebírat do magisterky obrázky pocházející z review apd. (zdroj je uveden správně, to je v pořádku), ale součástí obrázku je jeho dostatečný popis (= vysvětlení, co na něm je a co to znamená). A to tu mnohdy chybí..... Možná, že to reflektuje nedostatek času ke konci psaní (což by ale nebyla polehčující okolnost....).

### Konkrétně (respektive příklady)

- obr. 2 (str. 4) – u dolního panelu není zcela jasné, jak a v co se která buňka specializuje.
- Obr. 3 (str. 5) – chybí i základní popis umožňující orientaci (anteriorní, dorsální... a nejasnost schémata nabývá, jak postupuje čtenář směrem doprava). Zkratky genů – musí být vysvětleny (a nejsou...),
- Obr. 8 ukazuje komplexitu meziorgánové komunikace. Bližší popis by čtenáři výrazně ušetřil orientaci. (aniž by oponent problematice nějak rozuměl, nebo rozumět chtěl, přijde mu užitečné zmínit, že se obrázek zabývá v podstatě insulinovou komunikací. Konkrétně je tam třeba uvést, která zkratka odpovídá insulinovému receptoru, zajímavé by bylo zmínit SDR coby dominantně negativní formu insulinového receptoru. IIS – opět, běžně používaná zkratka v oboru, ale pokud to čte někdo, kdo odpovídající zkratky zná, tak to ani moc číst nepotřebuje. Rozumějte, nejde o to zavalit čtenáře množstvím detailů (to vůbec nepožaduji), ale něco mu přiblížit, objasnit a obrázky mají usnadnit orientaci. Z pohledu studenta pak tato část diplomky slouží jako trénink v psaní odborného textu.

Konec úvodu obsahuje odstavec vysvětlující cíl práce – tady bych rád pochválil, že to je na správném místě a tak nějak by úvod měl končit (a to mnohdy v magisterkách chybí, i proto to zdůrazňuji).

V této magisterce by se výrazně hodil seznam zkratk často popisovaných genů/proteinů (seznam umístěný nejlépe na začátku práce). Mohl by obsahovat i krátké upřesnění (tři slova).

#### **Věcná stránka práce:**

Metodický popis mi přijde srozumitelný a dostatečně podrobný. Výsledky jsou jasně popsány a formulovány a navazující diskuse splňuje požadavky kladené na diskusi.

#### **Dotazy:**

Tím, že nejsem z oboru, tak mám dotazy naivní povahy, konkrétně.

- V práci jste vypínal *sirt1* ve vybraných tkáních pomocí RNAi, přičemž pokles byl cca na 65% vzhledem ke kontrole. Zvažoval jste opačný přístup? Tedy použít nulového mutanta v genu *sirt1* a zachraňovat expresi ve vybraných tkáních?
- V práci naznačujete komunikaci mezi tukovým tělesem a křídelními disky, případně může být zapojen i mozek (IPCs, *methusaleh*). Jedná se tedy o plno možností. Navrhněte prosím dva pokusy (maximálně tři), které byste Vy k ozřejmění situace preferoval, vysvětlíte je a vysvětlíte proč by to byly právě tyto pokusy.

#### **Shrnutí**

Celkový dojem z práce je, že se jedná o opticky stručné dílo, které ale splňuje všechny požadavky kladené na magisterskou diplomovou práci. Po textové stránce je to psáno velmi dobře a nebýt slabé legendy u obrázků v úvodu, tak bych stručnost vyložení chválil. Po věcné stránce oceňuji, že výsledky, jejich popis a diskuse zapadají dohromady. Celkově tedy z mého pohledu práce dobře splňuje svůj účel – zasvětit studenta do dané problematiky, udělat jisté penzum experimentů a následně to tlumočit čtenáři. Proto jednoznačně práci doporučuji k obhajobě. Konkrétní známku bych navrhl podle samotné obhajoby a zodpovězení otázek.

V českých Budějovicích, 18. Května 2018;

David Doležel

