

Oponentský posudek diplomové práce Daniely Parkanové „Fotoperiodická synchronizace cirkadiánních hodin v suprachiasmatických jádrech“

Diplomová práce byla vypracována na Fyziologickém ústav Akademie věd ČR pod vedením dr. Sumové. Cílem práce byla charakterizace vlivu extrémně krátkých a extrémně dlouhých fotoperiod (s náhlým či pozvolným přechodem režimu světlo/tma) na expresi vybraných „hodinových“ genů v různých částech suprachiasmatických jader a korelace této exprese s hladinami proteinů kódovaných příslušnými geny. Dalším cílem byla charakterizace hladiny exprese „hodinových“ genů v játrech jakožto vybraném periferním oscilátoru.

Práce je klasicky členěna na anglicky psaný abstrakt, obsáhlý seznam zkratk, krátký úvod, literární přehled, seznam použitých metodik a materiálu, výsledky, diskuzi a seznam použitých citací. Klíčová slova nejsou v této diplomové práci uvedena.

Literární úvod (na 21 stranách) je přehledný a prokazuje autorčinu velmi dobrou orientaci v dané problematice. Vyjadřování je většinou logické a srozumitelné, umožňuje bez problémů sledovat text. V celé diplomové práci se vyskytuje pouze několik překlepů (např. strana 29 (mimojiné), strana 40 (cenrifugace), strana 52 (as tejně)). Také anglikanismů se vyskytuje pomálu (např. próby/ribopróby, kity či adenosine 3', 5' monophosphate). Podle mého názoru by u některých pasáží nebylo na škodu citovat aktuálnější články, pokud jsou tedy k dispozici (to se týká zejména kapitoly o využití melatoninu v lékařské praxi, strana 16, dole). K literárnímu úvodu mám následující dotazy:

- 1/ jaká je sekvenční podobnost genů CLOCK a NPAS2 (strana 18)?
- 2/ byly připraveny mutanty ve všech třech Per genech Per1, 2, 3) současně?

Kapitola materiál a metody (na 19 stranách) je opět napsána velmi dobře a prokazuje že autorka zvládá obstojné množství metodik. K této kapitole mám následující připomínky či dotazy:

- 1/ výrazy *in situ* a *in vitro* se obvykle píše kursivou
- 2/ u restričního štěpení se obvykle udává počet jednotek na reakci, stejně tak spíše než „3 mikrolitry“ plasmidu by se mělo uvést množství DNA na reakci (obě strana 40)
- 3/ byla použita anti-Per2 protilátka také králíci (strana 44)?
- 4/ na straně 45 nejsou uvedeny výsledné koncentrace složek kryoprotektantu
- 5/ opravdu je nutné hybridizovat Per1 při 60 °C a Per2 při 61 °C (strana 42)?

Ve vlastní experimentální práci (na 33 stranách, 30 grafů) autorka srovnává úroveň exprese hodinových genů (Per1 a Per2) v různých částech (rostrální, mediální a kaudální) suprachiasmatických jader při různých podmínkách osvětlení. Úroveň exprese byla stanovována pomocí *in situ* hybridizace v koronálních řezech vybraných částí mozku. Zjištěná hladina exprese byla poté porovnávána s profilem hladin odpovídajících proteinů. V druhé části experimentální práce autorka sleduje vliv fotoperiody na expresi hodinových genů Rev-ERB α , Per1, Per2, Bmal1, Cry1 a DBP v játrech, tentokrát pomocí RQ-PCR.

K experimentální části této diplomové práce mám následující otázky:

- 1/ použili jste pro stanovení exprese hladin Per1 a Per2 genů a jejich proteinový produktů stejného jedince (myš)?
- 2/ proč jste si vybrali právě játra jakožto modelu periferního oscilátoru?

Diskuze (na 7 stranách) je napsána věcně, s ohledem na dosažené výsledky, které jsou dostatečně konfrontovány s odbornou literaturou. Nicméně bych zde uvítal konkrétnější nástin případného vývoje této práce do budoucna.

Diplomová práce obsahuje 99 relevantních citací. Dvě z citací (Sumova *et al.* 1995a, b) jsou správně citovány v textu diplomové práce (strana 29) nikoliv však v seznamu literatury (strana 101). Také bych osobně příliš nedoporučoval citovat články z popularizačních časopisů typu Vesmír (Illnerová 1994 (strana 11) a Illnerová 1996 (strana 16)).

Navzdory všem uvedeným připomínkám práce Daniely Parkanové splňuje požadavky kladené na práci diplomovou, a proto ji doporučuji k obhajobě.

