

Příprava rostlinného transformačního vektoru obsahujícího *galT* jako selektovatelný gen a jeho užití k transformaci rajčete.

Předložená bakalářská práce má obvyklé členění (Úvod, Literární přehled, Materiál a metodika, Výsledky, Diskuze, Závěr a Seznam Literatury). Rozsah práce je 56 stran včetně tabulek a obrázků.

Cílem práce bylo prověřit účinek alternativního selekčního systému založeného na markerovém genu *galT* při transformaci rajčete. Cíl je v úvodu práce jasně formulován.

Práce je poměrně rozsáhlá, zahrnuje dvě části – jednak konstrukci vektorů nesoucích gen *galT* a jednak jejich použití při transformaci s následnou analýzou získaných transgenních rostlin. Každá z těchto částí by do určité míry mohla, vzhledem ke svému rozsahu a zpracování, obstát jako samostatná bakalářská práce.

V literárním přehledu je vhodnou formou a myslím i v optimálním rozsahu zmíněno vše, co souvisí s řešenou problematikou – selekční systémy s podrobnějším přehledem selekce na galaktóze a metody transformace. K této části mám jeden dotaz a jednu připomínku. Na str. 5 je zmíněna selekce k bispyribak-natriu. Můžete blíže vysvětlit princip této selekce a na jakých rostlinách byla uplatněna? Dále na straně 7 (Selekce na galaktóze) je zmíněna součinnost dalšího enzymu s odkazem na kapitolu 2.3.1.; tato kapitola však popisuje nepřímou transformaci pomocí agrobakteria.

Kapitola Materiál a metodika je poměrně rozsáhlá, což odráží skutečnost, že student musel během své práce zvládnout velké množství různých metodik. Správnost postupů při konstrukci transformačních vektorů nedokážu přesně posoudit, ale vedení této části práce doc. Vlasákem je mi dostatečnou zárukou, že zde nedošlo k pochybení. K celé této kapitole mám následující dotazy a připomínky:

- Na str. 14. je uvedeno barvivo pro elektroforézu, je tím míněn vkládací pufr?
- V textu jsou zmíněna média LB, LK a MS-2,4D/B, jejich složení je však uvedeno asi o 10 stran dále. Bylo by proto vhodné vložit zde odkaz na příslušnou str. nebo kapitolu a chybí zde i odkaz na literaturu.
- V práci postrádám složení ligačního pufu (str. 16, bod 2) a TAE pufu (str. 14) a vysvětlení zkratky DMSO (str. 17, bod 3).
- Při popisu kultivačních podmínek explantátů (kap. 3.2.) by bylo vhodné uvést i intenzitu osvětlení.
- Při přípravě bakterií pro transformaci bylo používáno médium LK bez antibiotik nebo s nimi? Na str. 22, bod 1, nejsou antibiotika uvedena.

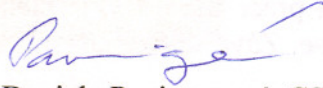
Rozsah a zpracování výsledků plně odpovídá požadavkům na bakalářskou práci, text je vhodně doplněn tabulkami, obrázky a fotografickou dokumentací. Zde mám výhrady pouze k tabulce 4 (str. 41), kde je těžko rozeznatelné, ke kterým explantátům přísluší další údaje v tabulce. V ostatních tabulkách bych doporučovala pro odpovídající údaje používat stejnou velikost písma (hlavně tab. 7 a 9, ale i ostatní).

Diskuze k získaným výsledkům je v dostatečném rozsahu. Některé souvislosti, patřící do diskuze, jsou vysvětleny již ve výsledcích. V tomto případě to však je zcela na místě a pro předloženou práci spíše přínosem, protože tím je vysvětlen i důvod zvoleného dalšího postupu při komplikacích během transformací. Ze závěru jasně vyplývá, že zadané cíle byly splněny.

Při posuzování bakalářské práce jsem jako pozitivní hodnotila zvláště to, že se student po počátečních neúspěších při transformacích nespokojil konstatováním, že něco nejde, ale hledal a našel příčinu počátečního neúspěchu.

Mohu konstatovat, že předložená práce splňuje požadavky na bakalářskou práci a doporučuji ji k obhajobě. Navrhuji práci hodnotit jako výbornou.

V Českých Budějovicích, 10.1.2007



Mgr. Daniela Pavingerová, CSc.

ÚMBR, BC AV ČR a katedra genetiky BF JU