

Analýza vybraných genomových oblastí s dominantními supresory *adgf-a* mutantního fenotypu u *Drosophila melanogaster*

Předložená práce navazuje na předchozí úspěšný výzkum Tomáše Doležala a Michala Žurovce. Zabývá se řešením dílčích úkolů v rámci studia genetické a molekulární charakterizace genů modifikujících odpověď organismu na vysokou hladinu extracelulárního adenosinu na modelu mutace růstového faktoru ADGF-A u *D. melanogaster*. Tato problematika je vědecky velmi atraktivní, vzhledem k zásadnímu významu v organismu a též díky jeho roli v některých vážných onemocněních člověka, což autorka stručně a výstižně popisuje v úvodní části práce.

Vlastní práce je rozsáhlá a metodicky velmi náročná. Spočívala v identifikaci supresorových genů generováním molekulárně definovaných delecí pomocí inserce P-elementů a následné homologní rekombinace, využitím známých delecí ve zkoumané oblasti genomu u linií z kmenových center a testováním P-elementových insercí izolovaných Monikou Žuberovou. Na tomto místě bych chtěl upozornit na neobvyklou strukturu práce (s výjimkou úvodu), ve které není pro čtenáře snadné se zorientovat, neboť použité metody a výsledky jsou psány dohromady. Čtenář se dozví, co bylo zjištěno či prokázáno až ze závěrečného shrnutí výsledků v kapitole 5. Naopak zcela chybí diskuse.

Ke zpracování výsledků mám následující připomínky, dotazy a komentáře.

- 1 - Dotaz k Obr. 16, ukazujícího kontrolu genomové DNA: u obrázku chybí popis velikostí jednotlivých proužků markeru (autorka pouze v textu uvádí, že se jednalo o 1 kb DNA marker) i bližší popis toho, co je vidět; ve druhé lajně má být genomová DNA – která to je? Ten proužek blíže startu nebo „smear“ krátkých fragmentů?

- 2 - Podobně chybí popisy velikostí i detailnější vysvětlení i u Obr. 17 a 18. U lajn označených písmeny F a R s vysvětlením F=forward a R=reverse mi není jasné, co proužek ukazuje a jak je to velké. Jinými slovy řečeno, způsob prezentace výsledků není přesvědčivý. Podobně se autorce podařilo utajit i velikosti PCR produktů u Obr. 20, 22, 23 a 25.

- 3 - V textu zcela chybí odkazy na všechny obrázky a i na tabulky, jediné odkazy v celém textu práce jsou na Grafy 1, 2 a 3 a na Tab. 3 (str. 14). Za závažný nedostatek práce považuji absenci vysvětlivek a detailnějších popisů u většiny obrázků, včetně výše zmíněných obrázků gelů, což značně zhoršuje přehlednost a jasnost textu. Např. u Obr. 2 (str. 7), ukazujícího strukturu adenosin deaminázy, je nedostatečný popis (např. co znamenají různé barvy?) a chybí též citace zdroje, ze kterého byl obrázek převzat; u Obr. 4, 5 a 6 nejsou vysvětleny zkratky použitých markerů a inverzí, atd.

- 4 - Na str. 32 – podle síly proužku **NELZE spočítat** koncentraci plazmidu, ale **lze** ji **ODHADNOUT**. Na tuto výsledkovou stránku nepatří vysvětlení, co jsou restriční endonukleázy.

- 5 - Nejlépe a nejjasněji je prezentován postup i výsledky transformace buněk při klonování sondy genu CG14478 (tj. kap. 4.4.2.2.). Škoda, že podobně jasné nejsou popsány i další části výsledků.

- 6 - Grafu 3 na str. 36 je uvedeno, že „to nebylo statisticky signifikantní“, přitom ale není uvedeno, jakým statistickým testem byly výsledky počtu hemocytů a lamelocytů u jednotlivých genotypů porovnány. Absence údaje o statistickém srovnání chybí podobně i u Grafů 1 a 2.

Drobné formální připomínky.

- Zaujaly mě „plovoucí“ konce řádků u Obsahu (i v tak nepovedeném textovém editoru, jakým je MS Word, lze konce řádků zarovnat).

- Autorka používá anglicismy u termínů, kde je k dispozici vhodný a dobře znějící český ekvivalent (např. „próba“ lze říct „sonda“, „Blomingtonské stockové centrum“ je „B. kmenové centrum“, místo „non-autonomní“ lze jednoduše říct „neautonomní“, „heat-shock“ je přeci normální „teplotní šok“, „buffer“ je „pufr“); v textu práce je též řada pojmů uvedena laboratorním žargonem – např. „stocky“, „vialky“.

- Str. 2, poslední řádek, místo „Ada“ má být „ADA“.
- Skloňování latinského názvu octomilky vypadá strašně, místo „*Drosophily*“ (toto se v textu práce opakuje víckrát) lépe použít počeštěný výraz „drozofily“, tak jak to autorka uvádí např. na str. 5.
- Str. 3 – co znamená kukly málo nebo vůbec evertované?
- Citace Žuberová & Doležal (2007) na str. 4 dole chybí v seznamu literatury.
- Na str. 6 má být asi místo „P-elementy, inzerované ve vybraných pozicích“ formulace „P-elementy, vložené ve vybraných pozicích“.
- U použitých modifikací P-elementů na str. 9 chybí odkazy na literaturu či aspoň zdroj, odkud byly získány.
- Citace Ryder *et al.* (2007) na str. 12 chybí v seznamu literatury.

Z á v ě r

Po přečtení a zhodnocení předložené práce nemám sebemenší pochyby o tom, že autorka zcela splnila zadané cíle. Získala novou delecí na chromosomu X a její následnou analýzou zúžila oblast genů s dominantními supresorovými účinky na fenotyp *adgf-a*. Ze známých delecí identifikovala mikrodelecí na chromosomu 2 se supresorovými účinky. Dále identifikovala jeden konkrétní gen se supresorovými účinky a lokalizovala inzerce P-elementů v tomto genu. Navíc připravila molekulární sondu pro studium exprese tohoto genu. Čili diplomantka odvedla obrovský kus metodicky náročné práce a získala kvalitní výsledky, před kterými „smekám“. Velká škoda, že náročnosti práce a získaným výsledkům neodpovídá nedostatečný způsob jejich prezentace. Odbornou kvalitu práce též zbytečně snižuje řada formálních nedostatků.

Práci jednoznačně doporučuji k obhajobě, ale vzhledem ke zmíněným nedostatkům navrhuji její hodnocení klasifikačním stupněm **velmi dobře**.

V Českých Budějovicích, dne 29.5.2008

František Marec