

Použití genu *pmi* jako alternativního selektovatelného genu při transformaci lociky seté (*Lactuca sativa*).

Předložená bakalářská práce má obvyklé členění (Úvod, Literární přehled, Metodika a materiál, Výsledky, Diskuse, Závěr a Seznam Literatury). Rozsah práce je 48 stran včetně tabulek a obrázků.

V úvodu je jasně formulován cíl práce, kterým bylo zavést na pracovišti novou metodu selekce transformantů lociky seté.

V literárním přehledu je uveden velmi podrobný přehled selekčních systémů, což svědčí o tom, že studentka zvládla řešenou problematiku velmi dobře. Poněkud zbytečný mi připadá podrobný popis přímých metod transformací, které nebyly při práci používány. Naproti tomu problematiku přenosu T-DNA do rostlinného jádra zajišťovanou řadou *vir* genů autorka zúžila pouze na operon *vir B* a gen *vir D4* a zcela pominula ostatní důležité *Vir* proteiny účastníci se přenosu.

Kapitola metodika práce a materiál vhodným způsobem popisuje rozvržení jednotlivých pokusů, přípravu kultivačních médií a detekci transgenů.

Rozsah a zpracování výsledků plně odpovídá rozsahu bakalářské práce, text je vhodně doplněn tabulkami a fotografickou dokumentací. Postrádám ale v textu odkazy na tab. 3, 4, 6, 7 a 8 a na obrázky 2 až 12. Vzhledem k použitým metodikám jsou výsledky pokusů dostatečně rozebrány v diskusi. Na některé otázky by lépe odpověděly výsledky Sothernovy DNA-DNA hybridizace, její provedení by ale bylo nad rámec bakalářské práce, již tak dost rozsáhlé. Bakalářská práce je doplněna bohatým seznamem literatury (65 citací). Ze závěru jasně vyplývá, že zadané cíle byly splněny.

K předložené práci mám následující dotazy a připomínky:

1. Na str. 11 je zmínka, že u konopí setého byla přítomnost genu *pmi* dokazována chlorfenol-red assay. Můžete mi stručně vysvětlit princip této metody?
2. Proč se používala jiná koncentrace Domestosu pro sterilizaci semen při testovacích pokusech (str. 16) a při transformacích (str. 18)?
3. Při transformaci byla pro každých 20 děložních lístků připravená jiná bakteriální suspenze, nebo byly transformovány postupně ve stejné suspenzi (str. 18)?
4. Byla při přípravě vzorků pro PCR část rostliny vařena v 0,25 M NaOH skutečně 2 min (str. 21)? Obvyklá doba bývá 30 sekund.
5. Jak si vysvětlujete skutečnost – Tab. 2 (str. 29), prýt č. 55c, že rostlina po 6 týdnech kořenila, po 4 měsících nikoli, po 8 opět kořenila a po 12 zase nekořenila?
6. Na str. 28 píšete, že u nekořenících rostlin se pomocí PCR nepodařilo neprokázat transgeny. Údaje v tabulce tomuto tvrzení neodpovídají.
7. Aby byl selekční systém prakticky využitelný, je třeba, aby účinně fungoval v krátkém časovém úseku. V bakalářské práci se ale rostliny sledovaly 1 rok. V jakém nejkratším časovém úseku je možné rozdělit rostliny na základě selekčního mechanismu?

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

V Českých Budějovicích, 19.5.2006



Mgr. Daniela Pavingerová, CSc.

ÚMBR, BC AV ČR a katedra genetiky JU BF