

Konstrukce chloroplastých rekombinačních vektorů z knihovny chloroplastového genomu tabáku a rajčete

Magisterská

~~Bakalářská~~ práce byla vypracována na Oddělení genových manipulací Ústavu molekulární biologie rostlin AV ČR v letech 2004 až 2006. Zadané téma je součástí grantového projektu řešeného na oddělení, jehož jedním cílem je transformovat chloroplasty rostlin genem E7 pro karcinogenní protein lidského papillomaviru. V rámci oddělení šlo o průkopnickou práci, protože naše zkušenosti s transformací chloroplastů jsou zatím malé a spíše negativní.

Hlavním problémem magisterské práce Štěpána Ryby byla trochu nejasná koncepce. Bylo nutné, aby co nejvíce prospěla řešenému projektu a proto jsem byl bohužel nucen několikrát změnit směr postupu v jejím průběhu. Vzhledem k nedostatku konkrétních zkušeností jsme se postupně rozhodovali, zda transformovat chloroplasty tabáku nebo rajčete, které asi z pěti vhodným míst na genomu použít pro rekombinační integraci, zda transformovat současně s E7 a selektovatelným genem také signální geny a jaké a podobně. Přitom všechny varianty najednou nebylo možno zvládnout. Optimální postup vykrytalizoval až v průběhu práce a Štěpán Ryba si s tím dobře poradil a všechny plánované pokusy provedl samostatně a svědomitě, i když větší iniciativa a vlastní orientace při plánování klonovacích pokusů by byla žádoucí. Je ovšem třeba říci, že jich bylo provedeno několik desítek a byly velmi složité. Občas projevila neočekávaná nesnášenlivost bakterií ke klonovaným chloroplastovým genům, která velmi komplikovala postup.

Další část práce, ověřování exprese genů z chloroplastových vektorů v baktériích, již provedl Štěpán Ryba zcela samostatně a s dobrým rozhledem.

Experimentální výsledky práce považuji za vynikající, i když skutečné ověření vektorů v transformačních pokusech bude provedeno později. Bohužel se velká část pokusů přesunula až na poslední měsíce magisterského studia, sepisování proběhlo "narychlo" a proto se v textu objevily formální chyby, zmíněné oponentem. Větší pečlivost při formulacích a závěrečné kontrole textu by jistě byla na místě.

Dr. Josef Vlasák, CSc