

Marcelý Holé

## Studium variability genů obalových proteinů viru mozaiky ředkvičky

Cílem práce bylo porovnání variability genů pro obalový protein 6 izolátů viru mozaiky ředkvičky (RaMV), z nichž 3 pocházely z ČR, 2 z Moskvy a 1 z Vladivostoku. V době zadání magisterské práce nebyly ve světové literatuře známy žádné sekvence viru. Práce tedy přináší i zcela nové vědecké výsledky.

Téma práce je mi velmi blízké protože diplomantka pracovala s izoláty, které jsem izoloval v ČR a během svého krátkého pobytu v Moskvě v roce 1989.

### Výsledky

Autorka vyzkoušela řadu primerů a získala originální sekvence úseků obalového proteinu všech šesti izolátů v délce 400–600 bází, v případě izolátu CB 9 dokonce 900 bází. Provedla srovnání sekvencí nukleotidů a aminokyselin jednotlivých, geograficky značně vzdálených, izolátů RaMV, které dále srovnala s kompletní sekvencí viru publikovanou japonskými autory v létě 2007. Navíc stanovila fylogenetickou příbuznost RaMV s ostatními viry rodu Comovirus. Výsledky přehledně a graficky zdařile uspořádala do řady tabulek a obrázků. Rovněž diskusi považuji za zdařilou.

### Věcné připomínky

Trochu mne mrzí, že autorka necituje mou práci - ŠPAK, J.: Characterization, purification and serology of the Czechoslovak isolate of radish mosaic virus. Acta Virologica 36: 191 - 197, 1992. Nikoliv z ješitnosti, ale protože obsahuje postup purifikace a následnou přípravu specifického antiséra proti izolátu RaMV 1. To bylo základem další sérologické studie, jejíž výsledky následně autorka používá při porovnání s výsledky sekvencí aminokyselin bílkovinného obalu viru. V materiálu a metody není navíc v části **2.3. Purifikace viru** uvedena citace jakékoli jiné práce.

V obrázcích srovnání sekvencí by bylo vhodné, pro větší přehlednost, uvést i sekvenci Japonského izolátu.

### Dotazy

Autorka zjistila vysokou homologii ve skupině izolátů RaMV z jižních Čech a dvou z Moskvy. Izolát z Vladivostoku (Asie), však překvapivě vykazoval vyšší homologii s jihočeskými (např. 98% s RaMV 1) než s moskevskými izoláty (pouze 70%). Ptám se, zda si autorka ověřila, (např. sekvenováním původního materiálu v konzervě), zda se v případě výsledků sekvencí izolátu z „Vladivostoku“, nejednalo o kontaminaci některým z jihočeských izolátů? Na str. 24 je sice uvedeno, že RaMV 1 a japonský izolát vykazují 93% homologii, homologie geograficky blízkých izolátů z Japonska a z Vladivostoku však uvedena není. Osobně bych byl z takového výsledku nervózní a snažil bych se jej ověřit. Má autorka pro tak vysokou homologii geograficky velmi vzdálených izolátů nějaké jiné vysvětlení?

Mohla by autorka vysvětlit větu na str. 2 cituji: Některé hostitelské rostliny např. *Brassica rapa perviridis* jsou v citlivosti k RaMV heterozygotní?

Mohla by si autorka ujasnit způsob příjmu potravy u brouků uváděných v posledním odstavci na str. 2? Cituji: „Virus je přenášen ... hmyzem sajícím na rostlinách a to zejména brouky *Phyllotreta* spp. *Epitrix hirtipennis* a *Diabrotica undecimpunctata*“. Tato věta by mohla entomology značně rozrušit.

### **Formální připomínky**

Zda by autorka mohla objasnit používání jednotek **k** a **K** u velikosti jednotlivých polyproteinů na str. 4., která není uvedena v seznamu použitých zkratk.

V diskusi by bylo lépe používat namísto obecného odkazu (viz výsledky), odkaz na konkrétní obrázek či tabulku.

V kapitole 7. **Reference** (česky asi lépe Seznam použité literatury) je na straně 28, 30 a 31 u některých citací poznámka nepublikováno. Považoval bych za vhodné uvést zdroj těchto prací např. accession number v databázi apod.

Nejednotná grafická i formální úprava citací na str. 30 působí dojmem, že autorce již docházely síly.

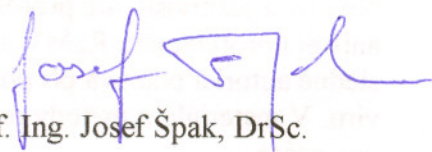
### **Závěr**

S potěšením konstatuji, že doc. Petrzikovi se podařilo zadat velmi pěkné téma magisterské práce, které umožní studentovi růst a nikoliv jej zničit. Marcela Holá zvládla řadu základních metod pro molekulárně-biologickou práci s rostlinnými viry. Od inokulace rostlin, přes návrhy a ověření primerů, izolaci, amplifikaci, klonování a sekvenování úseků virového genomu až po vyhodnocení sekvencí nukleotidů a aminokyselin. Dále metody porovnání sekvencí u různých izolátů a stanovení fylogenetické příbuznosti virů např. v rámci rodu *Comovirus*. Získala originální výsledky a sepsala pěknou práci.

Pozitivně hodnotím i spoluautorství diplomantky na původní publikaci v impaktivním časopise *Acta virologica*.

Rozsah práce i výsledky plně vyhovují požadavkům na magisterskou práci. Proto práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji

- výborně -



Prof. Ing. Josef Špak, DrSc.

V Č. Budějovicích 26.1.2008