



Vyjádření školitele k magisterské práci Bc. Zuzany Helekalové nazvané *Evoluční a funkční analýza CenH3 genů u vybraných druhů z čeledi Viciaceae*

Hlavním cílem práce bylo získat sekvence kódující histon CenH3 u vybraných druhů rostlin z čeledi *Viciaceae*. Histon CenH3 je variantou histonu H3, která se nachází výhradně v centromerách. Na rozdíl od histonů H3 je mezi histony CenH3 značná sekvenční variabilita, která znemožňuje jednorázovou amplifikaci sekvencí kódujících tento histon pomocí degenerovaných univerzálních primerů. Strategie získání kódujících sekvencí byla proto založena na amplifikaci vnitřního relativně konzervovaného úseku pomocí RT-PCR a následném získání sekvencí na 5' a 3' koncích pomocí 5' a 3' RACE. Funkční analýza, tj. test centromerické lokalizace, byla provedena pomocí fúzních konstruktů CenH3 s fluorescenčním proteinem YFP.

Studentka Z. Helekalová musela v poměrně krátkém čase zvládnout široké spektrum metod a provést značné množství laboratorních experimentů. Zde bych rád vyzdvihl nesmírné pracovní úsilí, které vynaložila při řešení zadaných úkolů. Studentce se podařilo získat celé kódující sekvence nebo alespoň jejich vnitřní fragmenty u většiny vybraných druhů. Fragmenty CenH3 genů zbývajících druhů jsou buď již zaklonovány a čekají na osekvenování nebo budou v nejbližší době amplifikovány pomocí nových primerů navržených ze získaných sekvencí příbuzných druhů. U dvou druhů leguminóz studentka prokázala centromerickou lokalizaci histonů CenH3. Proto mohu konstatovat, že studentka splnila hlavní zadané cíle. Rád bych podotkl, že sekvence histonů CenH3 byly dosud charakterizovány u velice malého počtu druhů rostlin což dosud bránilo rozsáhlejšímu studiu rostlinných centromer na molekulární úrovni. Výsledky studentky Z. Helekalové tak položily vynikající základy pro studium struktury a evoluce centromerických sekvencí u leguminóz a budou nepochybně publikovány v impaktovaném časopise.

.....
Pavel Neumann (školitel)