

Oponentský posudek bakalářské práce Moniky Hrubé s názvem „Analýza repetic v genomech vybraných druhů modrásků rodů *Polyommatus* a *Lysandra*“

Bakalářská práce Moniky Hrubé byla zaměřena na studium mobilních elementů, které byly vybrány jako specifické pro druhy modrásků s fragmentovaným karyotypem.

Úvod odpovídá zvolenému tématu. První část je zaměřena na popis chromozómů motýlů na kterou navazuje členění a popis jednotlivých typů repetitivních sekvencí. K textu úvodu nemám zásadní připomínky, ale postrádám podrobnější informace týkající se **1)** velikosti genomu, složení a podílu repetitivní DNA u motýlů, případně hmyzu obecně, a srovnání s druhy vybranými pro tuto práci, **2)** mobilních elementů vybraných pro tuto práci a dat a analýz na základě kterých byly vybrány, a **3)** vysvětlení, proč jsou jsou mobilní elementy spojovány s chromozomálními přestavbami (Existují zdokumentované případy chromozomálních přestaveb, které byly způsobené mobilním elementem? O jaké typy mobilních elementů se jednalo? Jsou chromozomální přestavby způsobené aktivitou mobilního elementu nebo k nim jen dochází v místech kde se mobilní elementy nachází?). Ačkoliv je poslední bod pro tuto práci stěžejní, je mu v úvodu věnováno nejméně místa.

Část „Materiál a metody“ je napsána dostatečně podrobně a přehledně, avšak narazil jsem na několik nepřesností a textových chyb, z nichž dále zmiňuji jen některé. U popisu metody PCR (3.4) je DNA polymeráza uvedena jen jako „Ex Taq“ místo „Ex Taq DNA polymeráza“ a pufr je napsán anglicky. Klon-test (3.6.4) není standardní označení metody. Zde mělo být rozepsáno, že vybrané klony byly testovány na přítomnost a délku zaklonované DNA. Agarové Petriho misky (3.6.3) jistě nebyly vyrobené z agaru, jak se může z textu zdát, nýbrž agar obsahovaly. Homologie mezi dvěma sekvencemi buď je a nebo není (3.8.1, 3.8.2) - zde je nepochybně myšlena podobnost/identita mezi sekvencemi. 100% ethanol není roztok (3.8.2.).

Výsledky kopírují dílčí cíle uvedené v části 2, a jsou rozděleny na **1)** klonování a sekvenování vybraných mobilních elementů, **2)** lokalizaci některých z těchto elementů na chromozómech a **3)** testování přítomnosti u dalších druhů. K prvním a druhému bodu nemám zásadní připomínky. Použití metody PCR pro testování přítomnosti mobilních elementů je diskutabilní, protože mobilní elementy jsou zpravidla sekvenčně velice variabilní jak mezi druhy tak mezi jednotlivými kopiemi v rámci jednoho druhu a negativní výsledek PCR nemusí nutně znamenat absenci testovaného elementu ve vzorku DNA. Znamená pouze tolik, že ve vzorku chybí element, jehož sekvence DNA je komplementární k primerům použitých pro PCR. Ze stejného důvodu může být velmi nepřesné stanovení počtu kopií repetitivní sekvence metodou qPCR.

Diskuze a závěr staví na získaných výsledcích, které ale nepovažuji za zcela spolehlivé. Pokud by měla tato práce být základem pro publikaci ve vědeckém časopise, měly by být tyto výsledky ověřeny dalšími experimentálními a/nebo bioinformatickými metodami. Kromě toho, při mezidruhovém porovnávání složení repetitivních sekvencí není až tak neobvyklé, že se některé elementy, zvláště ty s relativně malým počtem kopií, nachází jen u některých blízkých příbuzných druhů. Proto nalezení mobilních elementů specifických pro druhy s fragmentovaným karyotypem nelze považovat za dostatečný důkaz svědčící o podílu těchto elementů na fragmentaci karyotypu. V této souvislosti mne napadá otázka, zda byly nalezeny také elementy specifické pro druhy s normálním karyotypem.

Závěrem bych chtěl zdůraznit, že jsem se v tomto posudku soustředil na slabiny a sporná místa této práce. Celkově se ale domnívám, že předložená bakalářská práce rozhodně splňuje kriteria kladená na tento typ studentské práce a proto ji doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích 8.7.2020

.....
Pavel Neumann