

## **Posudek diplomové práce na PŘF JČU v Českých Budějovicích**

Název diplomové práce:

Vývoj molekulárních markerů pro chromozom W u modráška *Polyommatus icarus*

Autorka práce: Bc. Monika Hrubá

Oponentka: Doc. Mgr. Radka Symonová, Ph.D.

### ***Hodnocení diplomové práce***

Předložená DP je sice velmi stručně pojata, přesto však vystihuje všechny nezbytné náležitosti. Stručnost činí práci čtivou a výstižnou. Studentka na 50 stranách textu prokázala schopnost pracovat jak v laboratoři tak v prostředí příkazové řádce a zorientovat se v komplexním tématu. Záplavy sekvenčních dat dokázala efektivně využít a došla k vytyčenému cíli, ačkoliv z vytipovaných sekvencí a PCR primerů se ukázal jako funkční jediný pár. Cíle práce byly splněny

Kapitola Úvod představuje 4 základní témata relevantní pro DP: chromozomy motýlů, genomovou instabilitu modrášků, pohlavní a neo-pohlavní chromozomy a problematiku určení pohlaví u raných vývojových stádií hmyzu, na kterou se práce ve výsledku orientuje.

Kapitola Cíle práce stručně uvádí kontext zadané práce a definuje jasné vymezené cíle, kterými bylo identifikovat sekvence chromozomu W a využít je k vývoji PCR primerů pro určení pohlaví morfologicky nerozlišitelných stádií vybraného modráška.

Nejobsáhlejší kapitolou jsou Materiál a metody (12 stran), kde studentka detailně popisuje kombinaci laboratorních a výpočetních metod, které ve své práci využívá. Zde je patrné, že DP byla vhodně zadána, že zapadá do širokého tématu řešeného laboratoří školitele a že řeší zásadní otázky v dané problematice. Díky tomu měla studentka výbornou příležitost naučit se krom laboratorní části také bioinformatické analýzy. Této příležitosti se studentka chopila a zdá se, že jí využila na maximum. Krom izolace DNA, PCR (zahrnující design a testování nově popsanych primerů) a elektroforézy, uvádí komplexní bioinformatickou analýzu dat založených na sekvenčních technologiích ONT a Illumina (basecalling, QC, skládání genomu, odstranění duplikací, k-merová analýza a výběr pohlavně specifických sekvencí). Text je doplněn obsáhlou tabulkou sekvencí navržených a testovaných primerů a přehledem použitých jedinců.

Kapitola Výsledky popisuje výstupy jednotlivých kroků analýz včetně úskalí, kterým studentka čelila. Text je doplněn adekvátním počtem tabulek (BUSCO, Quast výsledky, kontigy chromozomu W a výsledky PCR deseti kombinací primerů). Následuje 8 obrázků elektroforetických gelů, což zvyšuje přehlednost celé práce a současně demonstruje množství laboratorní práce, které studentka provedla při testování kandidátských párů primerů. Jednotlivé kapitoly na sebe logicky navazují. Závěrem kapitoly studentka uvádí, že testovaný pár primerů č.3 se osvědčil při určení pohlaví čerstvě vylíhlých housenek.

Diskuze srovnává výsledky a výstupy celé práce s ostatními podobnými případy z literatury (člověk, octomilka, emu, bourec), věnuje se vlivu kvality genomových assembly při hledání pohlavně specifických sekvencí a předkládá alternativní postup v případě, kdy je k dispozici neposkládaný ref. genom. Zajímavým výsledkem zmíněným v Diskuzi je skutečnost, že nalezení sekvencí z chromozomu W je možné i při výrazně nižším množství dat od jednoho jedince než uvádí literatura (snížení nákladů, možnost zahrnout více

jedinců obou pohlaví). Závěrem kapitoly studentka konstatuje, 1.) že pár primerů č. 3 u jediné samice a jejího potomstva nevytvořil žádný produkt, což náležitě diskutuje; a 2.) že se nepodařilo identifikovat autozom, který fúzoval s chromozomem W za vzniku neo-W a popisuje alternativní možnost pro nalezení tohoto autozomu.

Závěr konstatuje splnění cílů práce a zmiňuje kontext, ve kterém budou výsledky práce uplatněny.

DP cituje 90 referencí, které jsou všechny v angličtině (krom 2 Bc/Mgr prací svých kolegyně v ČJ), v jednom případě v němčině. Použitá literatura zahrnuje jak starší klasická díla, tak nejnovější publikace v oboru. Pokud mohu posoudit, literatura je vhodně zvolena a zpracována. V jednom případě studentka zkomolila jméno českého autora (M. Konvigka místo M. Konvička; zde by pomohl např. nástroj Zotero).

Formálně je práce zdařilá s přijatelným množstvím překlepů (např. markety místo markery (str.7), navrhnou místo navrhnout (str.9), regentu místo reagentu (str.21), vzorů místo vzorků (str.37). Obrázky gelů dosahují publikační kvality, stejně jako výsledky této práce.

#### *Připomínky a dotazy k diplomové práci*

K diplomové práci nemám závažnější připomínky. Snad jen by prospělo, kdyby se studentka vyhnula neustálému opakování stejných latinských názvů, zejm. sousloví „zástupci řádu Lepidoptera“, Oxford Nanopore se standardně zkracuje jako ONT nebo 3x „ThermoFisher Scientific“ u přístroje Qubit. Na druhou stranu do práce šlo přidat např. print screen grafického zobrazení k-merů specifických pro samice namapovaných na referenční genom nebo fotografii chromozomů inkriminovaného druhu či tkání/jedinců, které se při použití jí vyvinutých markerů používají. Studentka vzhledem ke kvalitě odvedené práce rozhodně neměla zapotřebí uměle natahovat text.

Existuje publikace, kde se explicitně praví, že **více delších** k-merů (zde 55-mery) zasahuje do určité pohlavně specifické (nebo jiné) oblasti v porovnání s **kratšími** k-mery?

Musí se housenky usmrtit při získání DNA na použití PCR markerů?

Budou výsledky publikovány?

#### **Závěrečné hodnocení a klasifikace**

**Diplomová práce je na vysoké úrovni, jednoznačně ji doporučuji k obhajobě a navrhuji známku výborně (A).**

V Český Budějovicích dne 6.1.2023