

Posudek: Diplomová práce

Bc. Adéla Hejzlarová: Efektivní screening báзовých editorů v mutagenези *Drosophila melanogaster*

Diplomová práce Adély Hejzlarové se zabývá možnostmi, jak efektivně editovat genetickou informaci *D. melanogaster*. Ve své práci autorka použila 4 různé báзовé editory, kdy pomocí gRNA editovala 4 různé úseky genu *white*. Dále Adélu zajímalo, zda je editace teplotně senzitivní, když zkoumala efektivitu editace DNA u octomilek umístěných do tří různých teplot.

Diplomová práce obsahuje všechny důležité kapitoly, tedy úvod, cíle práce, materiál a metodiku, výsledky, diskuzi, závěr a také dostatečný přehled použité literatury. Počet stylistických chyb a překlepů není příliš vysoký. Práce shrnuje impozantní množství autorkou odvedené práce při křížení much, kdy muselo být prohlédnuto množství octomilek čítající několik desítek tisíc jedinců. Autorka také zvládla celou řadu metod molekulární biologie jako je izolace genomové a plazmidové DNA, PCR, gelová elektroforéza, použití restričních endonukleáz, Gibsonovo klonování a transformace kompetentních bakteriálních buněk. Podařilo se jí splnit všechny uvedené cíle. Ukázala, že ač je editace pomocí Cas9 nejefektivnější, je nejméně přesná. Z báзовých editorů byl nejúčinnější cytosinový Target-AID. V neposlední řadě autorka také ukázala, že teplota ovlivňuje editaci genomu octomilek vysokou měrou.

K práci mám několik připomínek a dotazů:

1. V kapitole materiál a metody jsou v mnoha tabulkách popisovány stejné informace, které jsou popisovány i v textu, jedna shrnující tabulka by byla v tomto oddíle naprosto dostačující. Některé metodicky důležité informace chybí:

Jak koncentrovaný roztok primerů byl použit v PCR (molarita) – práce uvádí pouze 0,5 µl forward a 0,5 µl reverse primeru, bez bližšího určení koncentrace (odd. 3.2).

Jaký typ agarózy (název, výrobce) byl použit pro přípravu agarózového gelu používaného při ELFO (odd. 3.3)?

Jaké medium bylo použito pro nárůst bakterií přes noc (odd. 3.6.5.) – LB, SOC, SOB?

U obrázku č. 3 je pravděpodobně chyba v křížení 1 (gRNA místo PrDr u samce).

Odkud byly zaslány mouchy s vyrobeným konstruktem (popisováno na str. 27), nebo je připravovali pracovníci ENTÚ, stejně jako samce obsahující báзовé editory?

2. Jakožto téměř laika v oboru editace genomu mne zaujalo, že 3. targetovací místo nebylo editováno žádným použitým nástrojem kromě Cas9, a to pouze za vzniku mozaicistního jedince. Je toto častý, či obvyklý jev? Existuje pro to nějaká teorie, případně má autorka nějakou teorii, proč tomu tak bylo?

3. Bohužel, největší nedostatek celé práce vidím v absenci odkazů na tabulky a obrázky v textu, což podstatně negativně ovlivnilo čtenářovu orientaci v diplomové práci. Jedinou výjimkou je obrázek č. 16, na který je v textu odkazováno. Celkově je práce napsána lehce chaoticky, autorka také odkazuje na neexistující kapitolu 5.1 (str. 45), v textu odkazuje na 4. a 5. křížení (str. 28 a 29), přičemž žádné z uvedených křížení není očíslováno ani v textu, ani u obrázků.

Přes uvedené nedostatky se domnívám, že tato práce je velkým přínosem pro další výzkum v oblasti editace genomu pomocí bázových editorů a splňuje požadavky kladené na magisterskou práci na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity. Jednoznačně ji doporučuji k obhajobě, vzhledem k míře nedostatků práce však navrhuji známku „výborně minus“, či „velmi dobře“ (v závislosti na schopnosti autorky prezentovat práci při obhajobě).

V Českých Budějovicích, dne 12.1.2023

Olga Bazalová