

Posudek školitele na diplomovou práci **Bc. Moniky Šťackové**
„Mapování vybraných sekvencí metodou TSA-FISH u pavouků“

Monika se v předchozím bakalářském studiu zabývala sekvenováním a analýzou mitochondriálního genomu u mšic. Cytogenetické metody, kterým se začala věnovat po svém nástupu do Laboratoře molekulární cytogenetiky Entomologického ústavu (Biologické centrum AV ČR), tak pro ni byly zcela nové. Cílem její diplomové práce byla optimalizace protokolu pro fluorescenční in situ hybridizaci s tyramidovou amplifikací signálu (TSA-FISH) pro detekci vybraných genových rodin v genomu pavouků. Ty lze lokalizovat na chromozomech i méně náročnými protokoly. Nicméně tajným přáním školitele bylo využití optimalizovaného protokolu k mapování identifikovaných pohlavně vázaných genů. TSA-FISH je, jak poznamenal jeden z oponentů, dlouhá a poměrně náročná metoda. Optimalizace zahrnuje velké množství experimentů bez pozitivních výsledků, což je, jak mohu potvrdit z vlastní zkušenosti, značně frustrující. Přesto si Monika protokol osvojila a v poměrně krátké době získala pěkné signály při nízkém pozadí. Bohužel ale narazila na problém v podobě artefaktů po DAPI barvení, které zcela znemožňovaly dokumentaci výsledků. Artefakty se snažila odstranit na základě doporučení kolegů i systematickými úpravami protokolu. Marně. Nakonec bylo nutné chromozomální preparáty před samotnou TSA-FISH barvit Giemsou a dokumentovat ve světelném mikroskopu a následně překrýt vrstvou se signály. To dále zkomplikovalo již tak náročný protokol.

Jednotlivé geny se pomocí výsledného protokolu detekovat nepodařilo. Protože je ale molekulární cytogenetika pavouků stále v plenkách, i lokalizace běžně používaných cytogenetických markerů je poměrně zajímavým výsledkem. Obzvláště zajímavá je lokalizace histonu H3 na jednom z údajných nediferencovaných párů pohlavních chromozomů. Na místě by bylo porovnání s dalšími druhy pavouků, na které bohužel nezbyl čas. Ukázalo se totiž, že je Monika schopná efektivní práce jen pod skutečně pedantským dozorem, který ze zásady odmítám vykonávat. Bez tohoto dozoru do laboratoře docházela sporadicky, patrně z důvodu nedostatku vlastní motivace nebo neschopnosti organizace práce. Vrcholem pak bylo letošní léto, kdy se po úspěšném složení státních zkoušek neukázala ani jednou. Na podzim pak zjistila, že potřebuje experimenty opakovat a po zpracování získaných dat jí na sepsání Výsledků a Diskuze zbyl pouhý týden. Je to škoda. Na předložené práci se to samozřejmě podepsalo a já s její výslednou podobou rozhodně nejsem spokojen.

Závěr

Diplomová práce Bc. Moniky Šťackové přes výše uvedené obsahuje originální a zajímavé výsledky a tím dle mého soudu splňuje minimální požadavky kladené na práce tohoto typu na Přírodovědecké fakultě JU. Proto ji doporučuji k obhajobě.

V Levíně dne 23. ledna 2018,


Petr Nguyen
(školitel)