

OPONENTSKÝ POSUDEK

na bakalářskou práci

Petra Nguyena

Distribuce rDNA u motýlů

Obsáhlá bakalářská práce Petra Nguyena je zdařilou cytogenetickou studií, zabývající se distribucí a evolucí nukleolárních organizátorů u motýlů. Práce je přímo nabita výsledky a je nutno konstatovat že objemem vykonané práce a kvalitou analýzy je již prakticky na úrovni diplomové práce. Studie je doplněna třemi perfektně provedenými obrazovými tabulemi dokládajícími získané výsledky, jakož i 4 dalšími tabulkami, obrázky a schémata které vhodně doplňují text. Součástí je i rozsáhlý přehled literatury čítající 88 položek, který dokumentuje autorovu dobrou orientaci ve studované problematice. Práce je pečlivě zpracována, s naprostým minimem překlepů a gramatických chyb. Srozumitelnost textu však občas snižuje stylistika, konkrétně drobné nepřesnosti ve vyjadřování a komplikovaná stavba vět či souvětí. Tyto formální nedostatky jsem s autorem probral ústně a nejsou předmětem kritiky. Rád bych upozornil jen na výskyt některých anglikanismů v textu. Přestože tyto výrazy používají všichni naši cytogenetické počínaje mou maličností, jsou nesprávně vytvořeny: ribosomální (správně ribosomový), chromosomální (správně chromosomový), Robertsonovská translokace (správně Robertsonova translokace), rDNA-nesoucí chromosom (správně chromosom nesoucí rDNA).

V úvodním přehledu literatury je nejprve probrána stavba, funkce a dynamika jadérka, následují údaje o stavbě rDNA a chromatinu v oblastech nukleolárních organizátorů a evoluci rDNA. Přehled literatury je zakončen stručnou charakteristikou karyotypu motýlů včetně dosavadních poznatků o distribuci nukleolárních organizátorů. Z publikovaných dat je zřejmé že o distribuci nukleolárních organizátorů a jejich evoluci u motýlů je známo velmi málo.

K této části mám následující drobné připomínky:

- strana 1, 1. odstavec: rDNA je na chromosomech lokalizována nejen v oblastech nukleolárních organizátorů. Postrádám alespoň zmínku o 5S r DNA (korektní charakteristika distribuce rDNA je podána až v kapitole 1.2)

- strana 2, 2. odstavec a dále v textu: struktury se zvýšenou afinitou k iontům stříbra označujeme jako argentofilní, nikoliv argyofilní
- strana 3, 2. odstavec a dále: musím polemizovat s redukcionistickým pojetím nukleolárního organizátoru které je prezentováno v práci. Nukleolární organizátor nelze pojímat jen jako proteiny fibrilárních center které zůstaly na začátku dělení v místě sekundární konstriktce. Nukleolární organizátor zahrnuje také chromatin sekundární konstriktce (nebo odpovídající struktury), který se vyznačuje převahou rDNA genů.
- strana 3, 5. odstavec: u řady organismů vykazuje rDNA nukleolárního organizátoru aktivitu až do konce profáze I, tedy ještě v diplotene a diakinezi
- strana 4, 4. odstavec: sekvence které vážou DNA k proteinové matrix chromosomu označujeme jako „scaffold attachment region“ (SAR). „Matrix attachment region“ (MAR) jsou sekvence které vážou DNA k matrix interfázního jádra. SAR a MAR sekvence nejsou vždy totožné.
- strana 6, 2. odstavec: laterální expanze – v češtině je nutno nahradit „expanzi“ adekvátnějším výrazem
- strana 7, 1. odstavec: co má autor přesně na mysli tím že „matrix chromosomu je v oblasti NOR axiálně rozvinutá“ ?
- strana 8, 2. odstavec a dále v práci: přesnější by bylo hovořit o tom, že se chromosomy vyznačují uniformní/ podobnou délkou/velikostí, nikoliv uniformním tvarem
- strana 8, 3. odstavec: barvení dusičnanem stříbrným a N pruhování jsou dvě různé metody
- strana 10, tab. 1: doporučuji uvést také systém pohlavních chromosomů jednotlivých druhů (pokud je znám). K vysvětlivkám – doporučuji oddělovat zkratku a její vysvětlení pomlčkou, nikoliv čárkou – je to opticky přehlednější (obzvláště když se ve stejném textu používají ještě středníky)
- strana 10, tab. 1 a dále v práci: možná by bylo účelnější operovat s diploidními počty chromosomů heterogametického pohlaví, počet nukleolárních organizátorů by se pak vztahoval k párům chromosomů.

Následující metodická část je psána přehledně a velmi podrobně, takže může sloužit jako užitečné vodítko pro všechny, kteří by ji chtěli v budoucnu použít.

Ve výsledkové části autor detekoval polohu klastrů rDNA v nukleolárních organizátorech 17 druhů z 11 čeledí, čímž získal soubor reprezentující diverzitu tohoto

početného řádu hmyzu. K detekci byla použita biotinylovaná 18S rDNA sonda kterou připravil z obaleče jablečného. To vše představuje obdivuhodný objem práce v laboratoři a u mikroskopu. K výsledkové části mám jedinou drobnou připomínku – doporučuji důsledně používat pojem hybridizační signál resp. signál a vyvarovat se pojmu značka. Za jádro obsáhlé diskuse lze považovat detailní analýzu mechanismů které vedly k charakteristické distribuci nukleolárních organizátorů u jednotlivých skupin. Nakonec je rekonstruován ancestrální NOR-karyotyp motýlů a nastíněna jeho další evoluce v jednotlivých taxonech. Autor správně uvádí, že se jedná o první systematické studium nukleolárních organizátorů u motýlů. Podle mého názoru má však celá práce ještě jeden, nesrovnatelně hlubší význam, a to v rovině obecné cytogenetiky. Jedná se totiž i o první studii zabývající se evolucí nukleolárních organizátorů u skupiny, která se vyznačuje holokinetickou strukturou chromosomů. Diskuse získaných výsledků naznačuje, že se evoluce nukleolárních organizátorů u organismů s normálními a holokinetickými chromosomy nemusí nutně ubírat stejnými cestami. Při průniku do této badatelsky atraktivní niky bych tedy autorovi rád popřál hodně štěstí a nezbytné vytrvalosti.

ZÁVĚREČNÉ HODNOCENÍ

Předložená bakalářská práce dokumentuje nejen schopnost autora orientovat se v zadané problematice a analyzovat adekvátním způsobem získané výsledky, ale i jeho pracovitost. Drobné připomínky nijak nesnižují vysokou kvalitu práce. Předpokládám že P. Nguyen bude v řešení tak nadějně problematiky pokračovat i v rámci magisterského studia. Práce splňuje požadavky kladené na bakalářskou práci a proto ji jednoznačně doporučuji k obhajobě.

V Praze 22.ledna 2007


RNDr. Jiří Král, Dr.