

Posudek diplomové práce na PŘF JČU v Českých Budějovicích

Název diplomové práce: Role tandemových repetitivních v evoluci karyotypu a degeneraci pohlavního chromosomu W u skvrnopáskníka lískového (*Lomaspilis marginata*)

Autorka práce: Bc. Marharyta Trehubenko

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

Hodnocení diplomové práce

Předložená DP využívá metod molekulární cytogenetiky u motýla skvrnopáskníka lískového, který vykazuje variabilitu v přítomnosti sex chromatinu a chromosomu W. Studentka na 47 stranách textu prokázala schopnost pracovat v laboratoři a osvojit si netriviální metody molekulární biologie a cytogenetiky včetně klonování fragmentů DNA.

Kapitola Úvod představuje základní témata relevantní pro DP: Chromozomální určení pohlaví obecně a u motýlů, Evoluce pohlavních chromozomů, Pohlavní chromozomy u motýlů, Sex chromatin, Repetitivní DNA v genomu motýlů a Velikost motýlího genomu. V závěru popisuje druh, kterému se práce věnuje.

Kapitola Cíle práce stručně uvádí kontext zadané práce a definuje jasné vymezené cíle, kterými bylo 1.) identifikovat typy chromosomu W v rámci „rodin motýlů“ pomocí CGH; 2.) mapovat mikrosatelit miSAT-03 u rodin s novým typem W; a 3.) lokalizovat kandidátní sekvenční satelitů pomocí FISH.

V kapitole Materiál a metody studentka detailně popisuje všechny laboratorní metody, které ve své práci využívá. Zde je patrné, že DP byla vhodně zadána, že zapadá do širokého tématu řešeného laboratoří školitelky a že řeší zajímavé otázky v dané problematice. Díky tomu měla studentka výbornou příležitost naučit se komplexní workflow laboratorních metod. Této příležitosti se studentka chopila a zdá se, že jí využila na maximum (šlo o izolaci DNA a přípravu chromozomových (meiotických i mitotických) preparátů z různých tkání housenek, tři typy PCR, gelovou elektroforézu, klonování, CGH, FISH a stanovení velikosti genomu pomocí průtokové cytometrie).

Kapitola Výsledky detailně popisuje výstupy jednotlivých kroků analýz (FISH, CGH a FC) a zahrnuje 1 čb obrázek různých typů sex chromatinu spolu se čtyřmi tabulemi výsledků z fluorescenčního mikroskopu. Jednotlivé kapitoly na sebe logicky navazují.

První část kapitoly Diskuze spíše pouze opakuje výsledky. Až další odstavce lze považovat za diskusi výsledků.

Závěr shrnuje výsledky, konstatuje splnění cílů práce, s čímž lze souhlasit a nastiňuje budoucí směr výzkumu. Konkrétně studentka shrnuje, že na základě CGH se samčí a samičí gDNA a identifikace heterochromatinových bloků u s. lískového zaznamenala 5 typů chromosomu W, přičemž 2 z nich objevila pro vědu. Mapování miSAT-03 prokázalo odlišné složení typů W-1 a W-4, čímž opodstatňuje zavedení nového typu W-4. Dále ukázala vnitrodruhové rozdíly ve velikosti genomu (až 23 %) studovaného druhu.

DP cituje 68 referencí, které jsou vesměs v angličtině (krom VŠKP svých kolegů v ČJ). Použitá literatura zahrnuje jak starší klasická díla, tak nejnovější publikace v oboru. Pokud mohu posoudit, literatura je

vhodně zvolena a zpracována. V seznamu literatury je pouze malé množství formálních nedostatků (např. chybějící název časopisu, nejednotnosti stylu citací, atd.).

Text práce je poněkud zanedbán s nebývalým množstvím překlepů, nejednotností, jazykových chyb a stylistických nedostatků. To vše připisuji skutečnosti, že studentka nemá čeština jako rodný jazyk. Na druhou stranu pouhé zapnutí jazykové kontroly v programu MS Word by většinu chyb odhalilo a učinilo text lépe srozumitelným.

Obrázky FISH a CGH experimentů a jejich zpracování dosahují publikační kvality, stejně jako hlavní výsledek této práce, kterým je identifikace dvou nových typů chromozomu W z hlediska ne/přítomnosti heterochromatinizovaných bloků (W-4 a W-5). Studentka participovala jako spoluautorka na publikaci Hejníčková et al., 2021.

Diplomová práce obsahuje výrazně více překlepů a jazykových chyb, než je běžné i u VŠKP odevzdávaných na poslední chvíli. V navrhované známce však přihlížím k okolnostem, za jakých práce vznikala.

Dotazy k diplomové práci

V sekci 3.8. o CGH uvádíte, že „celogenomové sondy byly prehybridizovány při 37°C po dobu 1,5 hodiny, aby došlo k renaturaci nejpočetnějších sekvencí“. Nemohl tento krok ovlivnit míru hybridizace Vámi sledovaných sekvencí, které patrně také patří k bohatě zastoupeným v genomu skvrnopásníka?

Mohla byste vysvětlit, jaký mechanismus k přednostní renaturaci repetitív vede?

Závěrečné hodnocení a navržená klasifikace

Diplomová práce je přes četné nedostatky v textu na takové úrovni, že ji mohu doporučit k obhajobě a navrhuji známku 2.

V Český Budějovicích dne 15.5.2023