



RNDr. Iva Vrbová, Ph.D.
Laboratoř molekulární cytogenetiky
Ústav molekulární biologie rostlin, BC AVČR, v.v.i.
Branišovská 31, 370 05 České Budějovice
Telefon: (+420) 387 775 511
Fax: (+420) 385 310 356
E-mail: fukova@gmail.com

Posudek bakalářské práce Marie Kubínové: Analýza a mapování repetice Ema25 u tmavoskvrnáče vřesového *Hypomecis atomaria* (Lepidoptera, Geometridae)

Ve své bakalářské práci se Marie Kubínová věnuje charakterizaci repetitivní sekvence Ema25. Tato sekvence byla nalezena u pídalky tmavoskvrnáče vřesového (*Hypomecis atomaria*) jako potenciálně vázaná na samičí chromosom W. Ten je u tohoto druhu silně heterochromatinizován a předpokládá se, že akumuluje repetice běžně se vyskytující v genomu.

Práce je členěna na Úvod, Cíle práce, Materiál a metody, Výsledky, Diskusi, Závěr a Seznam použité literatury. Jako přílohu obsahuje sekvence studované repetice. Celková délka práce je 28 stran. Rozsah jednotlivých kapitol odpovídá jejich účelu, nikde není text přebujelý nebo naopak příliš strohý. Práce je dobře napsaná, s minimem chyb a překlepů. Jedinou výtku bych měla k sazbě, kdy se ocitají spojky a předložky na konci řádku.

Úvod je pěkně napsaný a obsahuje dostatek informací k uvedení čtenáře do studované problematiky. Přesto se v něm vyskytuje několik chyb a nepřesností. Zejména bych chtěla vznést dotaz k těmto kapitolám:

- Kap. 1.3: V předposledním odstavci je uvedeno, že podobnost sekvencí byla testována pomocí databáze BLAST. BLAST ale není databáze! Stejná chyba je i dále ve výsledcích a dokonce v anotaci a závěru. Jaké byly ve skutečnosti prohledávané databáze?
- Kap. 1.4: V textu píšete, že přímé značení sond pro FISH umožňuje okamžité pozorování výsledku ihned po hybridizaci. Jaké jsou další výhody přímého značení?
- Kap. 1.5: V popisu systému pohlavních chromosomů u kroupnatce v prvním odstavci na str. 5 nejspíš proklouzla drobná chyba. Zřejmě vypadla druhá dvojice chr. Z u samce (správně asi $WZ_1Z_2/Z_1Z_1Z_2Z_2$). Věta na konci posledního odstavce by už měla přijít do následující kapitoly Cíle práce. Jaká další metoda vedle FISH by byla vhodná k ověření přítomnosti daných repetit na chromosomu W?

V kapitole Materiál a metody je chyb a nepřesností více. Neustále se opakuje špatný popis složení reakčních směsí a roztoků (kap. 3.3 na str. 8, 3.5 na str. 9, 3.8 3. odst. na str. 10, 3.9 1. a 3. odst. na str. 12 a předposl. odst. na str. 13). Lépe než množství pipetovaných složek je psát konečné koncentrace! Také se opakuje údaj o úhlovém zrychlení při centrifugaci v otáčkách za min. To je nedostatečné bez uvedení poloměru rotoru... Přesnější je užití jednotky v násobcích tíhového zrychlení g .

V kap. 3.4 na str. 9 je postup výběru sekvencí potenciálně lokalizovaných na chromosomu W nedostatečně popsán. Byla repetice Ema25 jediná nalezená? Z jaké populace jsou sekvenovány jedinci? Jedná se příbuzné jedince? Byly již tyto výsledky publikovány?

Jak funguje ExoSap použitý pro přečištění plazmidové DNA (kap. 8.8 na str. 11)?

Výsledky jsou dobře popsány a zdokumentovány a následně diskutovány a shrnuté. Chtěla bych vyzdvihnout krásné obrázky hybridizací na chromosomech (obr. 4 na str. 16). Signály jsou dobře patrné, vše je pěkně popsáno. K výsledkům mám pouze několik málo připomínek a dotazů:

- Zajímalo by mě, kolik bylo klonováno a sekvenováno klonů repetice Ema25.
- Jako kontrolu značení je dobré použít na gelu také neznačený fragment (obr. 3 na str. 16).

- Jak vypadal grafický výstup RepeatExploreru u repetice Ema25? Zkoušela jste různou úroveň stringence hybridizace a promývání skel po FISH? Jak jste dospěla k parametrům použitým při hybridizaci?

Celkově hodnotím předkládanou práci velmi dobře, je pěkně zpracovaná, prostá zásadních chyb a opomenutí. Dosažené výsledky hybridizací jsou publikační kvality, přestože se nepotvrdila lokalizace testované repetice na pohlavním chromosomu. Práci jednoznačně doporučuji jako podklad pro udělení bakalářského titulu slečně Marii Kubínové.

České Budějovice 20. 5. 2022

Iva Vrbová