



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: ifukova@umbr.cas.cz

Posudek bakalářské práce Adriany Crhonkové: Cytogenetická analýza vybraných mutantních linií bource morušového.

Bakalářská práce Adriany Crhonkové je zaměřena na ověření přítomnosti neopohlavních chromosomů u mutantní linie bource morušového *Bombyx mori* (Lepidoptera) pomocí metod molekulární cytogenetiky.

Práce je formálně v pořádku. Obsahuje veškeré části a náležitosti obvyklé u tohoto typu prací. Pouze výsledková část je poněkud okleštěná. Vzhledem k déletrvající nepříznivé situaci (nejen) ve vědě to ale není překvapující.

Úvod je pěkně napsaný, dostatečně pokrývá veškeré oblasti dotčené v práci a čtenáři poskytuje širší rámec k pochopení východisek výzkumu. Kromě drobných chyb (častěji zejména vypadlé písmeno nebo slovo) a překlepů působí při čtení rušivě pouze časté užití anglického pořádku slov ve slovních spojeních, např. „Z-vázaný gen“ místo „gen vázaný na chromosom Z“ (což se opakuje mnohokrát v celé práci, od kapitoly 1.2 dále), „W-specifická DNA“ místo „DNA specifická pro W“, „protein-kódující geny“ místo „geny kódující protein“ atd. Autorka také často rozepisuje celé latinské názvy druhů, včetně jejich zařazení do čeledi, přestože již byly v textu výše zmiňovány, někdy i opakovaně (zejména pak název a zařazení modelového druhu *B. mori*).

V kapitole 1.2.2 na str. 7 ve třetím odstavci chybí vysvětlení zkratk LTR a non-LTR retrotranspozonů.

Jaké jsou počty chromosomů u čeledi Psychidae a Tineidae?

Co značí číslování lokusů na chromosomu Z ve skupině pokročilejších Ditrysií na obr. 1 na str. 10? Kam by patřily ve fylogenetickém stromu linie Adelidae a Hepialidae? Je u čeledi Adelidae přítomen chromosom W?

V kapitole 1.4 je pěkný popis fenotypů způsobených mutacemi genů vázaných na chromosom Z u bource. V následující kapitole ale popis mutantního zbarvení larev chybí. Zajímalo by mě, jak vypadají larvy „sable“ a „moricaud“.

Cíl práce je po delším úvodu formulován velmi stručně. Prostřední odstavec této kapitoly, věnovaný třídění chromosomů, by se hodil spíše do úvodní kapitoly 1.2.2 nebo do diskuze k nastínění dalšího směřování výzkumu a návrhu dalších pokusů. Zde postrádá smysl, neboť v práci nebyla tato technika využita a ani její využití nebylo plánováno.

Materiál a metody jsou popsány stručně a srozumitelně. K této kapitole mám jen drobné připomínky nebo dotazy:

1) Koncentrace RNázy, použitá při izolaci genomové DNA, se mi zdá poměrně dost vysoká (50 mg/ml, kapitola 3.3 na str. 18). Skutečně byla tak vysoká?

2) Nevadila přítomnost nanášecího pufru, použitého k zastavení značící reakce, při dalším použití sond (kapitola 3.4 na str. 18)? Nefungoval by stejně dobře nějaký jemnější způsob?

3) V kapitole 3.5 na str. 18 je uvedeno složení, resp. ředění 5x Denhardtova reagens. Vhodnější by bylo uvedení konečných koncentrací jednotlivých složek.

Výsledků je v práci prezentováno poskrovnu. Možná právě proto by si zasloužily daleko pozornější a pečlivější zpracování a interpretaci. V práci není nikde výslovně řečeno, že studovaná linie bource morušového je určená k izolaci (či alespoň obohacení) chromosomu W. Z textu to vyplývá pouze nepřímo. Pro zhodnocení výsledků ale i zvolených metod a materiálu je to ale podstatné. Zajímalo by mě proto, zda se nejedná jen o nějaký můj dojem.

Jaké jsou počty mitotických chromosomů u samců a samic a jaké jsou jejich velikosti? Je neo-W výrazně odlišný od zbytku karyotypu?

Jaká tkáň by byla případně použita pro přípravu vzorků na třídění chromosomů?

Proč není v obrázku 2 na str. 21 rozložený na jednotlivé kanály také komplement 2d? Zejména když představuje typický výsledek barvení. Signál samičí sondy překrývá barvení DAPI a není patrná struktura multivalentu. V legendě by byla přesnější formulace podbarvení chromatinu nikoli chromosomů.

Autorka často zaměňuje termíny chromosom a bivalent, což je špatně.

Mohla by prosím autorka objasnit, jak přesně prováděla měření délek bivalentů? Data v tabulce 2 v příloze nejsou v souladu s výsledky. Do celkové délky komplementu je zahrnuta jak délka neo-W (v tabulce 1 uvedená jako délka pohlavních chromosomů), tak délka ancestrálního W. To by pak ale neodpovídalo údajům o podílu ancestrální části chromosomu W ve výsledcích a tvrzení o dvojnásobném zvětšení neo-W oproti původnímu chromosomu W.

Diskuze je dobře vedená. Jen tam asi unikla nepřesnost v tvrzení, že chromosom neo-W je u testované mutantní linie zhruba 2x větší než ostatní chromosomy v karyotypu. To není v souladu s experimentálními daty uvedenými v tabulce 2 v příloze.

Plánuje autorka také použití kombinace GISH a telomerické FISH k přesnějšímu určení párování neopohlavních chromosomů?

Autorka během své experimentální práce zvládla základní molekulární a cytogenetické metody a splnila cíl předem stanovený v zadání bakalářské práce. Předkládaná práce je celkem zdařilá, je vhodná jako první přiblížení a otestování pokusného materiálu a též jako podklad k úspěšné obhajobě bakalářského titulu Adriany Crhónkové.