Abstrakt

Mezi nejvýznamnější modelové organizmy v oblasti vývojové biologie patří bezesporu obojživelník *Xenopus tropicalis*. Jeho dřívější využití především v embryologickém výzkumu je v současnosti vytlačováno studiemi genetického a genomického charakteru. *X. tropicalis* má deset párů chromozómů v diploidním genomu a proto je pro tento typ výzkumu velmi vhodný. V posledních deseti letech byl jeho genom osekvenován, několikrát sestaven, vznikla provizorní genetická mapa a byla vytvořena i BAC knihovna mnohonásobně pokrývající genom. Přes veškeré úsilí se u tohoto druhu doposud nepodařilo sestavit kompletní mapu genomu. Ten i nadále zůstává organizován ve formě scaffoldů, které mají často neznámou polohu a i jejich sestavení zůstává i nadále sporné.

Náš výzkum byl zaměřen na kompletaci genomu u druhu *Xenopus tropicalis* a na nové přístupy, které by bylo možné využít i u jiných druhů. Nejprve byla na základě vazebné analýzy a zjištěné fyzické polohy markerů sestavena genetická mapa. Ta nebyla zcela kompletní- nezahrnovala krátké raménko chromozómu 2 a rovněž 15 cM z p raménka chromozómu 7. Protože bylo zaplnění těchto oblastí klasickými metodami velmi obtížné, nebo ještě pravděpodobněji zcela nemožné, byla vynalezena nová metoda pro genetické mapování. Ta zahrnuje mikrodisekci zvolené oblasti, celogenomovou amplifikaci získané DNA a její osekvenování metodou Illumina. Postup mikrodisekce a amplifikace byl využit ve srovnávací studii příbuzných druhů *X. tropicalis* a *X. laevis* metodou *Zoo-FISH*, kdy amplifikovaná DNA z druhu *X. tropicalis* sloužila jako sonda a ukázala sekvenční podobnost meiotických kvartetů.

Ve třetí studii bylo mikrodisektováno, amplifikováno a sekvenováno 15 kopií krátkého raménka chr.7. Získaná čtení byla srovnána se současnými verzemi genomu *X. tropicalis*. K vyříznuté oblasti se nejen podařilo přiřadit velké množství sekvencí a genů, ale byly rozpoznány i špatně sestavené scaffoldy. Data získaná z tohoto výzkumu byla použitá i pro studii srovnávající rozdíly pohlavních chromozómů u tohoto druhu. Mikrodisekce s následnou sekvenací byla pro účely genetického mapování použita vůbec poprvé a je zřejmé, že je tento přístup použitelný i u jiných živočišných druhů, a to jak s osekvenovaným, tak s neznámým genomem. Metodiku je ovšem možné použít i v jiných oblastech, jako je klinická medicína či onkologie.