

Posudek na diplomovou práci Martyiny Pokorné:

Martina Pokorná přišla se zkušenostmi s prací v laboratoři, hned bylo tedy jasné, že téma její diplomové práce může být technicky náročnější. V té době jsme řešili grant o fylogenezi způsobu určování pohlaví u gekončků (čeleď Eublepharidae), tj. jedné z mála skupin plazů, kde se jednotlivé blízce příbuzné druhy liší zásadně ve způsobu určování pohlaví – některé druhy mají TSD, jiné GSD, což jsme věděli pouze z rozdílů v závislosti poměrů pohlaví mláďat inkubovaných při několika konstantních teplotách. U GSD druhů jsme očekávali nalezení pohlavních chromosomů. Samozřejmě jsme si byli vědomi, že patrně nově odvozené pohlavní chromosomy budou s velkou pravděpodobností homomorfní a tedy těžko odhalitelné, přesto jsme věřili, že má cenu se do jejich hledání pustit (i v případě neúspěchu bychom se dověděli aspoň o evoluci karyotypu gekončků).

Nápad zkombinovat naše data o poměrech pohlaví u několika druhů s cytogenetickým výzkumem byl tedy na světě, chyběly nám ale zkušenosti a dovednosti potřebné k jeho uskutečnění. Měli jsme štěstí – projektu kromě nás uvěřil i pan doc. Petr Ráb z Laboratoře genetiky ryb ÚŽFG AV ČR a poskytl (spolu s ostatními pracovníky laboratoře) Martině skvělé zázemí k jeho řešení. Mnohé rady poskytl i Dr. Jiří Král z katedry genetiky PřF UK. Přestože měla Martina skvělé rádce, počáteční neúspěchy v získání kvalitních karyologických preparátů ze zvířete šetrnou cestou byly dosti frustrující. Po mnoha experimentech (např. kultivace fibroblastů, přímá preparace buněk z dorůstajícího ocasního regenerátu) se jako nejoptimálnější a nejméně destruktivní metoda u gekončků ukázala kultivace leukocytů, a to i z velmi malého množství odebrané krve. Stejně množství pokusů bylo věnováno i k optimalizaci různých diferenciatních barvení preparátů, Martina jich vyzkoušela hned několik (za neúspěch v některých případech spíš mohou gekončci než diplomantka) včetně velmi náročných technik FISH s pantelomerickou sondou a komparativní genomové hybridizace (ty obě dopadly dobře).

Jak jsme předpokládali, ukázalo se, že většina studovaných druhů gekončků nemá konvenčními metodami barvení preparátů odhalitelné pohlavní rozdíly. Významnou výjimkou je GSD druh *Coleonyx elegans*, kde patrně kvůli Robertsonovské fúzi původně homomorfního chromosomu Y s autosomem došlo k evoluci X1X2Y systému pohlavních chromosomů. Tímto objevem (pečlivě dokumentovaným použitými molekulárně-cytogenetickými metodami i popsáním

chování chromosomů během meiosis u samců) se nám splnil sen o nalezení pohlavních chromosomů tam, kde jsme je pouze předpokládali. Nyní bude mnohem snazší pátrat po pohlavních chromosomech i u blízce příbuzných GSD druhů s homomorfními pohlavními chromosomy, bude také zajímavé zjistit jejich homologii s autosomy u TSD druhů gekončků, potenciálně i jejich genový obsah.

Martina k řešení své diplomové práce získala podporu GAUKu, své výsledky vzorně prezentovala v srpnu posterem na konferenci ESEB v Uppsale, kde bylo inspirativní symposium o evoluci pohlavních chromosomů, už z její bakalářské práce vznikl (dosud nepublikovaný) rukopis. Celkově myslím, že práce Martiny Pokorné je výjimečná. Kombinuje se v ní zručnost, pečlivost a trpělivost se samostatným tvůrčím přístupem a porozuměním složité problematice evoluce pohlavních chromosomů. Z této diplomové práce zamýšlíme ještě letos sepsat reprezentativní publikaci, zejména o objevu zajímavého systému pohlavních chromosomů u *C. elegans*. Na závěr si neodpustím ještě osobní poznámku: Myslím, že na diplomovou práci je výjimečná i míra poučení školitele a rozšíření jeho obzorů během vypracování práce.

Práci rozhodně doporučuji k obhajobě a výbornému ohodnocení.

V Praze 1. září 2007


Mgr. Lukáš Kratochvíl, Ph. D.
katedra ekologie PřF UK