

**Posudek na diplomovou práci Renaty Slavíkové „Fyzické mapování vazebně
neidentifikovaných clusterů genů pomocí FISH-TSA s využitím cDNA markerů u X.
tropicalis“**

Začnu svůj posudek trochu netradičně, totiž závěrem a konstatováním, že se jedná o úctyhodné molekulárně genetické dílo a že ho lze bezpochyby doporučit k laskavému přijetí. A to i přesto, že v následujícím textu bude více kritiky než chvály, úkolem oponenta není totiž ona chvála, ale spíše opak, totiž nalézt místa problematická. Práce sama je ukázkovým přístupem, který kombinuje genomiku modelového organismu s fyzickým mapováním určitých segmentů DNA pomocí sofistikované metody molekulární cytogenetiky a to oboživelníka, tedy objektu fylogeneticky člověku vzdálenému, a každý nehumánní cytogenetik ví, že čím je objekt vzdálenější, tím horší je to práce a noční můra neúspěchů přilétá častěji a je větší než jindy! Nyní proberu jednotlivé části.

Členění diplomové práce je tradiční, není třeba se k němu vyjadřovat. Snad jen zařazení Cílů práce na úplný začátek je alogické, stanovení cílů by mělo následovat po Literárním úvodu, z kterého by měly tyto cíle vyplynout. Ve skutečnosti jsem se podobným členěním ještě neseťkal. Podobně postrádám Souhrn a jeho anglickou podobou zvanou Abstract. To je škoda, vždyť i pro mateřské pracoviště by pečlivě formulovaná anotace byla jistě vítanou reklamou na příslušných stránkách. Literární přehled má 4 podčásti, je jejich problematika na sebe logicky navazuje. Podstatným rozdílem je ovšem infromační obsah dotyčných podčástí. Tak část o modelových organismech 3.1 je velmi stručná, řejněme až vojácky strohá, třebaže několik otázek by si dle mého soudu vyžadovalo bližší osvětlení. Tak např. recentní systematické, taxonomické a nomenklatorické poměry drápatek je možné recentně zjistit na AmphibiaWeb, není nikde zmínka o tom, že se jedná o žáby vodní. Ač se to bude zdát pokřivené přece jen více zoologickým zaměřením oponenta, přece jen existuje poměrně dobře doložená hypotéza o složení genomu oboživelníků, které je dáno protisměrně působícími evolučními selekčními tlaky ve vodní a terestriální fázi života oboživelnictva. Podobně nejsou blíže popsány polyploidní poměry v rodě *Xenopus*, to je značně zajímavá otázka ukazující dosud nevídanou kombinaci alo- (mezidruhově hybridizace a asexuální reprodukce) a autotetraploidie. Vzhledem k tomu, že značná část studie se týká genomiky jednoho druhu, byla by exkurze do této problematiky evolučního míšení genomů neobyčejně užitečná. V souvislosti s polyploidíí je také terminologicky nejasně užíván tak jasný termín jako je polyploidní a diploidní. To by nepoučeného čtenáře opravdu zmátlo, z textu by mělo být zřejmé, že genom *X. laevis* je **evolučně** alotetraploidního původu (čili vznikl mezidruhově hybridizací), ale od této hybridizace již uplynula určitá perioda zpětné rediploidizace genomu, takže dnes se jeho genom chová jako u každého diploidního bisexuálně se množícího druhu. Potom tedy genom *X. tropicalis* je **evolučně** diploidního původu a jeho genom se rovněž chová jako u každého diploidního bisexuálně se množícího druhu. Podobně se nakládá s termínem diploidní v části o gynogenezi (str. 34-35). Postrádám také podrobnější informace o chromozomech obou modelových druhů, chápu, že pro diploidní to tak obyčejné, že je zbytečné se tomu věnovat. Nicméně práce je psána pro čtenáře, tak se domnívám, že na str. 17 (nebo někde kolem by mohla být ukázka karyotypu. Název Kapitoly 3.1.3.4 Aktuální organizace genomu je značně nejasný, myslí se tím Aktuální **znalosti** o organizaci genomu?

Naopak část metody mapování genomu (3.2) je podána sice stručně, ale s přehledem, výstižně prozrazuje, že diplomantka je v této problematice daleko více doma, než v těch žábách a jejich cytogenetice. Stejný výrok lze učinit o částech 3.3 a 3.4. Není divu, protože to bylo jádrem diplomového projektu. K části Materiál a metodika se lze vyjádřit následovně: vše podstatné je zachyceno a popsáno a lze si učinit představu o postupu studie a pochopitelně ji i reprodukovat. Výsledky jsou popsány stručně, lze se dobrat smyslu, ale přece jen se

některé formulace podobají částem z Materiál a metodika. K Obr. 2 vznáším otázku proč bylo zvoleno řazení jednotlivých chromozómů 4, 7, 3, 6, 10 a 9? Diskuse je rovněž značně stručná, přesto však tam lze nalézt podstatné, přesto je však dost obecná. Na str 64 jsem neporozuměl větě v posledním odstavci provedená „FISH-TSA analýza ukázala centromerickou pozici signálu na chromozómu č. 9“. Na Obr. 2 je ale tomto chromozomu signál někde kolem centromery. Z textu není zřetelné, o který znak se jedná. Pokud ano, omlouvám se svojí senescencí a progresivní indolencí. Přehled citované literatury jsem nepovažoval za důstojné kontrolovat proti citacím v textu, předpokládám, že to diplomantka učinila.

Obecně lze ale říci, že se text hemží formulačními neobratnostmi (např. str. 10 Mnoho sekvencí mezi *X. laevis* a *X. tropicalis*...zatímco má být Mnoho sekvencí mezi genomy...), anglismy (např. chromozomální, u *Xenopa*...) a je zaplevelen laboratorním žargonem. Na str. 13 je seznam modelových vertebrát jen skoupý, několik by se jich dalo určitě přidat, např. *Danio rerio*. Z textu je zřejmá určitá nepečlivost při přípravě textu. Tak např. již od počátku práce se používá řada zkratk (např. cDNA), ale tyto jsou vysvětlovány až od str. 17. Je to samozřejmě drobnost, ale může nasvědčovat o chvatu, s jakým byl spis sestavován.

Jestliže to shrnu a použiji své zkušenosti z oponování diplomových projektů. Jedná se o experimentálně nadprůměrnou studii, ale pečlivostí formálního zpracování spíše práci průměrnou. Přesto se těším na publikovanou verzi této studie, kterou si s velkou chutí přečtu a již teď žádám o příslušné pdf.

Petr Ráb 

V Liběchově 7.9.2007

OPONENT