

V Praze dne 17.1.2019

Oponentský posudek na diplomovou práci

Diplomová práce Bc. Martiny Kornalíkové „Analyses of *Monocercomonoides* genome sizes, ploidies and karyotypes“ je sepsána na 76 stranách v anglickém jazyce a je standardně členěna. Stanovené cíle jsou celkem tři: 1) analýza ploidie genomů vybraných druhů oxymonád kmene *Monocercomonoides* pomocí FISH-TSA s využitím single-copy genové sondy, 2) analýza jejich karyotypů s využitím fluorescenčně označených telomerických sekvencí pomocí nepřímé FISH a 3) analýza velikosti jejich genomu pomocí průtokové cytometrie.

Literární přehled se skládá z tří oddílů. V prvním se autorka zabývá morfologií a fyziologií oxymonád a velká část je taktéž věnována jejich taxonomii. Co mi zde ale chybí, je zdůvodnění, proč se prováděly výše uvedené analýzy právě na vybraných druzích a širší kontext výběru genu SufDSU jako markeru ploidie. Druhý oddíl zevrubně popisuje DNA a RNA hybridizační techniky založené na fluorescenčně značených sondách. Některé pasáže mi přijdou zbytečně duplikované, např. kapitola 2.2.5. Probe detection by šla spojit s kapitolou 2.2.4. Type of labels. Na straně 20 se autorka zmiňuje o analýzách chromozomálních přestaveb metodami FISH. Jaké konkrétní techniky měla na mysli? Malovací FISH či klasickou přímou nebo nepřímou FISH? Některé citace mi přijdou zbytečné. Například se jedná o citaci Nedbal et al., 2012, která je z podivných důvodů uvedena v souvislosti s nutností denaturovat chromozomální preparáty před vlastní hybridizací, nebo citace Wilder, 1935 s názvem „An Improved Technique for Silver Impregnation of Reticulum Fibers“ v souvislosti s montováním FISH preparátů. Z obecného hlediska mi v diplomové práci chybí odlišení přehledových článků (reviews) od původních publikací. Třetí oddíl literárního přehledu je věnován problematice průtokové cytometrie, která byla využita k analýze velikosti genomu studovaných parazitů.

Přirodovědecká fakulta UK

Doc. RNDr. Ing. Vladimír Krylov, PhD.

adresa: Viničná 7, 128 43 Praha 2

telefon: 221 951 773

e-mail: vkrylov@natur.cuni.cz

ičo: 00216208, dič: CZ00216208

Kapitola Materiál a metody je sepsána podrobně a obsahuje popis veškerých použitých technik a pracovních postupů. Dotaz mám k tabulce 8 (str.41) kde je uveden čas elongace v rámci PCR reakce 15 vteřin. Vzhledem k tomu, že byl amplifikován úsek kolem 2000 bp, zdá se mi tento čas poněkud podhodnocený. V rámci výsledků autorka jako první popisuje klonování a sekvenování genu SufDSU a vypracování fylogenetické analýzy, která ale není uvedena v cílech diplomové práce. Jedná se o vlastní práci studentky nebo o převzaté výsledky? Provedená FISH-TSA analýza se sondou namířenou proti stejnému genu ukázala haploidní genotyp u všech studovaných kmenů. Karyotypová analýza (zjištění počtu chromozómů) bylo provedeno pomocí identifikace počtu telomerických oblastí v interfázních jádrech metodou nepřímé FISH. Při pohledu na obrázek 11 je vidět přítomnost metafázních chromozómů ve velmi dobré kvalitě. Proč se studentka nepokusila zjistit počet chromozómů z metafázních figur přímo a využila k tomuto účelu relativně nepřesnou metodiku na základě signálů z telomerických oblastí? Závěrečná analýza se týkala velikosti genomu u všech studovaných kmenů pomocí průtokové cytometrie.

Kapitola diskuze je vedená na pěti stranách a zevrubně porovnává získané výsledky s dostupnou literaturou. Studentka zde jasně prokázala, že je schopná svá data zasadit do širšího kontextu. Podobně jako v cílech mi i v kapitole Závěr chybí zmínka o fylogenetické analýze. Z formálního hlediska bych upozornil na poměrně častý výskyt překlepů. Přes všechny zde uvedené výtky se jedná o kvalitní diplomovou práci, kterou velmi rád doporučuji k obhajobě a hodnotím stupněm velmi dobře.

Doc. RNDr. Ing. Vladimír Krylov, PhD.

Přírodovědecká fakulta UK

Doc. RNDr. Ing. Vladimír Krylov, PhD.

adresa: Viničná 7, 128 43 Praha 2

telefon: 221 951 773

e-mail: vkrylov@natur.cuni.cz

ičo: 00216208, **dič:** CZ00216208
