

Konzultantský posudek na diplomovou práci Veroniky Brynychové nazvanou *STR genotypizace středověké české populace: polykulturní lokalita Mlékojedy (okr. Litoměřice)*

Diplomová práce je z oboru archeogenetiky, tzn. aplikuje molekulárně genetické metody k získání poznatků o jedincích či populacích archeologického stáří. V tomto konkrétním výzkumu se diplomantka snažila pomocí STR genotypizace kosterních pozůstatků z lokality Mlékojedy zjistit genetickou strukturu malé středověké populace. Jakkoliv by se mohlo zdát, že se jedná o jednoduchý až rutinní laboratorní úkol, je tomu právě naopak. Vzhledem ke špatné zachovalosti DNA a riziku kontaminace se jedná o technicky velice náročnou práci, navíc se stálou nejistotou ohledně dosažení vůbec nějakých výsledků (riziko absence amplifikovatelné DNA nebo naopak přítomnosti kontaminace). Diplomová práce proto podává nejen zprávu o cílech výzkumu, technickém postupu a dosažených zjištěních, ale současně dokládá i schopnost diplomantky zvládnout fyzicky i psychicky náročnou práci s biologickým materiálem archeologického stáří.

V úvodní přehledové části autorka výstižně charakterizuje základní problematiku své diplomové práce. Text je založen na důkladné literární rešerši, která však není mechanická, ale zaměřuje se přednostně na ty aspekty aDNA problematiky, které jsou relevantní pro empirickou část práce.

Cíle práce jsou vymezeny opatrně, ryze explorativně, vzhledem k tomu, že u kosterního materiálu, který byl k dispozici, nebylo možné předem spolehlivě odhadnout zachovalost DNA a tím pádem ani potenciální hloubku analýz a zjištění. V tomto směru se vymezení cílů práce podobá archeologickému přístupu, ve kterém je výzkumný postup průběžně upravován podle dílčích zjištění.

Metodologie práce je adekvátní materiálu k dispozici, vybavení laboratoře a finančním možnostem diplomového výzkumu. Velká a "bohatá" laboratoř by asi postupovala v některých krocích odlišně a v případě multiplexových reakcí by využila existujících komerčních kitů. Nicméně v podmínkách dostupných diplomantce byl její postup a použitá metodika opodstatněná, tzn. dostatečně efektivní a zaručující hodnověrná zjištění.

Z hlediska antikontaminačních opatření a autentizace výsledků, které jsou v práci s aDNA kritickým faktorem pro hodnověrnost výsledků, předkládaný výzkum splňuje základní i pokročilé požadavky. Prakticky jedinou procedurou, která nebyla ve výzkumu použita a která by mohla

pomocí ještě silněji prokázat autenticitu výsledků je kvantifikace izolované DNA pomocí real-time PCR. Na druhou stranu, jak je v práci uvedeno, každý dodatečný krok či manipulace se vzorky snižuje množství templátu k analýze a zvyšuje riziko kontaminace. Mezi pozitiva práce patří i transparentní popis všech provedených procedur a dílčích výsledků uvedených ve vlastním textu a přílohách.

Samotná zjištění svým rozsahem odpovídají srovnatelným výzkumům publikovaným jak u nás, tak v zahraničí. Je škoda, že se nepodařilo zjistit úplné profily u více jedinců. Malé množství získaných dat tak nelze podrobit sofistikovanějším analýzám, které by mohly vypovědět více o genetické struktuře studované populace, resp. jejich kosterních pozůstatků. Na druhou stranu je třeba si uvědomit, že i tyto výsledky jsou v českých podmínkách ojedinělé a málokterá laboratoř se jimi může pochlubit.

Kritické připomínky:

1. Výsledky frekvencí alel TH01 ukazují ve srovnání s daty recentní české populace relativně vyšší frekvenci alely 9 a naopak relativně nižší frekvenci alely 9.3, zatímco frekvence ostatních alel jsou srovnatelné (graf 3 a 4). Je možné tuto komplementárně vypadající odlišnost interpretovat?
2. V přílohách jsem nenašel grafické výstupy multiplexů z kapilární elektroforézy. Proč?
3. V diskuzi bych uvítal zhodnocení použité metodiky ve srovnání s výzkumy, ve kterých bylo ke stejným cílům použito komerčních kitů nebo jiných, pokročilejších metod práce s aDNA (např. vazba templátu na substrát z účelem opakované amplifikace různých lokusů bez jeho znehodnocení). Bylo by možné dát nějaká doporučení pro podobné budoucí výzkumy?
4. Připomínku mám také ke sporadicky se vyskytujícím překlepům a stylistickým nedostatkům, např. v názvu kapitoly 4.4.

Vzhledem k výše uvedenému komentáři, který poukazuje především na silné stránky předložené diplomové práce, **doporučuji práci k obhajobě s navrženým hodnocením výborně.**

V Praze 8. září 2010

Mgr. Martin Hájek, PhD.