Ústav experimentální
botaniky AV ČR, v. v. i.

Centrum strukturní a funkční genomiky rostlin
Prof. Ing. Jaroslav Doležel, DrSc.
vedoucí

dolezel@ueb.cas.cz
telefon: +420 585 238 703
fax: +420 585 238 704

Hodnocení školitele

Analysis of plant genomes using flow-sorted chromosomes

Disertační práce

Mgr. Petra Cápala

Mgr. Petr Cápal předložil disertační práci, která obsahuje všechny požadované části a po formální stránce je na vysoké úrovni. Její hlavní části tvoří literární přehled, soubor čtyř publikací v kvalitních vědeckých časopisech s impaktním faktorem a jedna kapitola v knize vydané prestižním mezinárodním nakladatelstvím. Na dvou publikacích ve vědeckých časopisech je Mgr. Cápal prvním autorem.

Rozsáhlý literární přehled představuje velmi kvalitní úvod do problematiky. Jeho první část je zaměřena na strukturu a velikost jaderného genomu rostlin a mechanismy které v průběhu evoluce vedly k jeho zvětšování a měly za následek složitou strukturu, zejména u polyploidů. Podrobně jsou pojednány duplikace genomu, role mobilních genetických elementů a také mezidruhová hybridizace a jejich vliv na celkovou složitost genomu. V následující části je popsána průtoková cytometrie jako metoda vhodná pro stanovení množství jaderné DNA a tedy velikosti genomu a v souladu se zaměřením disertační práce je pak podrobně diskutováno využití průtokové cytometrie pro analýzu a třídění mitotických chromozómů. Zevrubně jsou popsány aplikace tohoto přístupu v genetice a genomice rostlin.

Experimentální práci, jejíž výsledky předkládaná disertační práce shrnuje, uskutečnil Mgr. Petr Cápal v letech 2012 až 2016 v Centru strukturní a funkční genomiky rostlin Ústavu experimentální botaniky AV ČR v Olomouci v rámci doktorského studijního programu P1527 Biologie, studijní obor Molekulární a buněčná biologie na PřF UP v Olomouci.

Výzkum zahrnoval tři okruhy. První byl zaměřený na vyřešení problému s izolací chromozómů, které pomocí průtokové cytometrie nelze dostatečné dobře odlišit od jiných chromozómů a nelze je tedy třídit s vysokou čistotou. Mgr. Cápal tento problém vyřešil elegantně tříděním jednotlivých chromozómů a následnou amplifikací jejich DNA. To ale vyžadovalo optimalizaci metody amplifikace DNA z jednoho chromozómu, který obsahuje velmi malé množství DNA. Vypracovanou metodu následně ověřil na chromozómu 3B pšenice a pomocí bioinformatických analýz potvrdil, že je možné dosáhnout vysoké reprezentativnosti amplifikace

DNA. Tyto analýzy také odhalily chybějící sekvence v referenční sekvenci chromozómu 3B, která byla publikována v roce 2014. Dostupnost nové metody nabízí možnost aplikovat chromozómovou genomiku i u druhů rostlin, u kterých by jinak nebyla kvůli nedostačenému rozlišení chromozómů použitelná.

Druhý okruh disertační práce byl zaměřený na využití DNA amplifikované z jednotlivých kopií tříděných chromozómů pomocí metody vypracované v této práci, pro určení chromozómů nesoucích transgen. Aplikováním tohoto postupu Mgr. Cápal jednoznačně lokalizoval gen sacharózového transportéru ječmene ve třech transgenních liniích pšenice. V každé z těchto linií byl transgen integrovaný do jiného chromozómu. Tento výsledek potvrdil výhodnost postupu založeného na třídění jednotlivých chromozómů a je důležitý pro další studium funkce transgenu, který zvyšuje výnos pšenice.

Třetí okruh práce byl založený na využití metody pro amplifikaci jednotlivých chromozómů pro získání dostatečného množství DNA z jednotlivých pylových zrn ječmene. Cílem bylo ověřit možnost použít amplifikovanou DNA pro hodnocení výskytu rekombinací podél chromozómů. V modelovém experimentu bylo použito 24 SNP markerů identifikovaných na chromozómu 3H ječmene. Získané výsledky potvrdily výhodnost tohoto postupu pro genetické mapování, který nevyžaduje mapovací populaci.

Z uvedeného je zřejmé, že Mgr. Cápal přispěl významným způsobem k rozvoji chromozómové genomiky. Díky metodám, které vypracoval a výsledkům, které získal, může chromozómová genomika ještě významněji přispívat k mapování a sekvenování složitých genomů rostlin a usnadňovat klonování důležitých genů.

Po celou dobu studia přistupoval Mgr. Cápal k řešení úkolů své disertační práce odpovědně, systematicky, samostatně a s velkou pílí. Bez potíží absolvoval všechny předepsané zkoušky. V rámci studia absolvoval stáž v délce 3 měsíců na zahraničním pracovišti (Wageningen University of Research, Nizozemsko), kde se věnoval bioinformatickým analýzám sekvencí DNA získaným z chromozómů tříděných pomocí průtokové cytometrie.

Závěrem rád konstatuji, že Mgr. Petr Cápal prokázal schopnost samostatně a tvůrčím způsobem řešit prioritní problémy současné genetiky a genomiky a jeho disertační práci doporučuji k obhajobě.

V Olomouci, 14. listopadu 2016

prof. Ing. Jaroslav Doležel, DrSc.