

Studium pohlavních chromozomů u vybraných druhů motýlů (*Lepidoptera*)

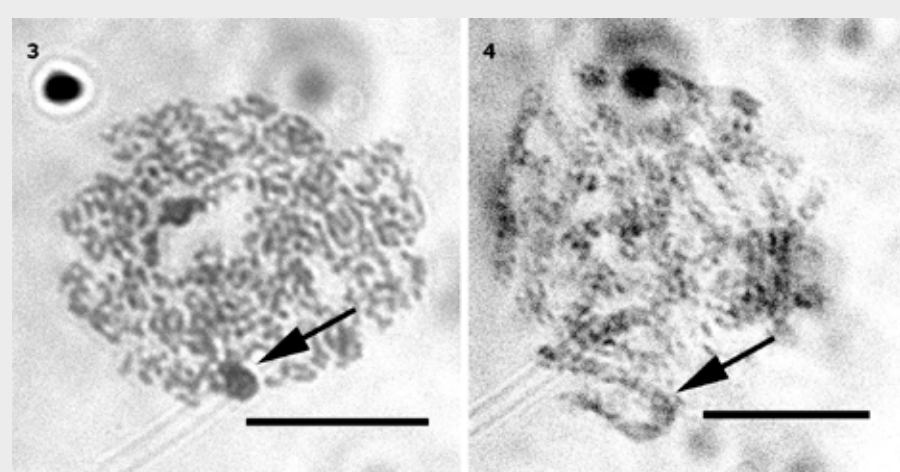
Úvod

- Motýli, řád *Lepidoptera*, mají samičí heterogametické pohlaví (ZW/ZZ), jako původní ale považujeme určení Z0/ZZ, které se nachází u primitivních motýlů.
- W chromozom sestává zejména z různých druhů repetic. V samičích interfázních jádrech tvoří heterochromatinové tělíčko, tzv. sex chromatin.
- Cílem práce bylo za použití metod molekulární cytogenetiky charakterizovat pohlavní chromozomy W a Z u klíněnky jírovcové, *Cameraria ohridella*, a u minovníčka dubového, *Tischeria ekebladella*, které řadíme mezi basální druhy motýlů s chromosomem W.

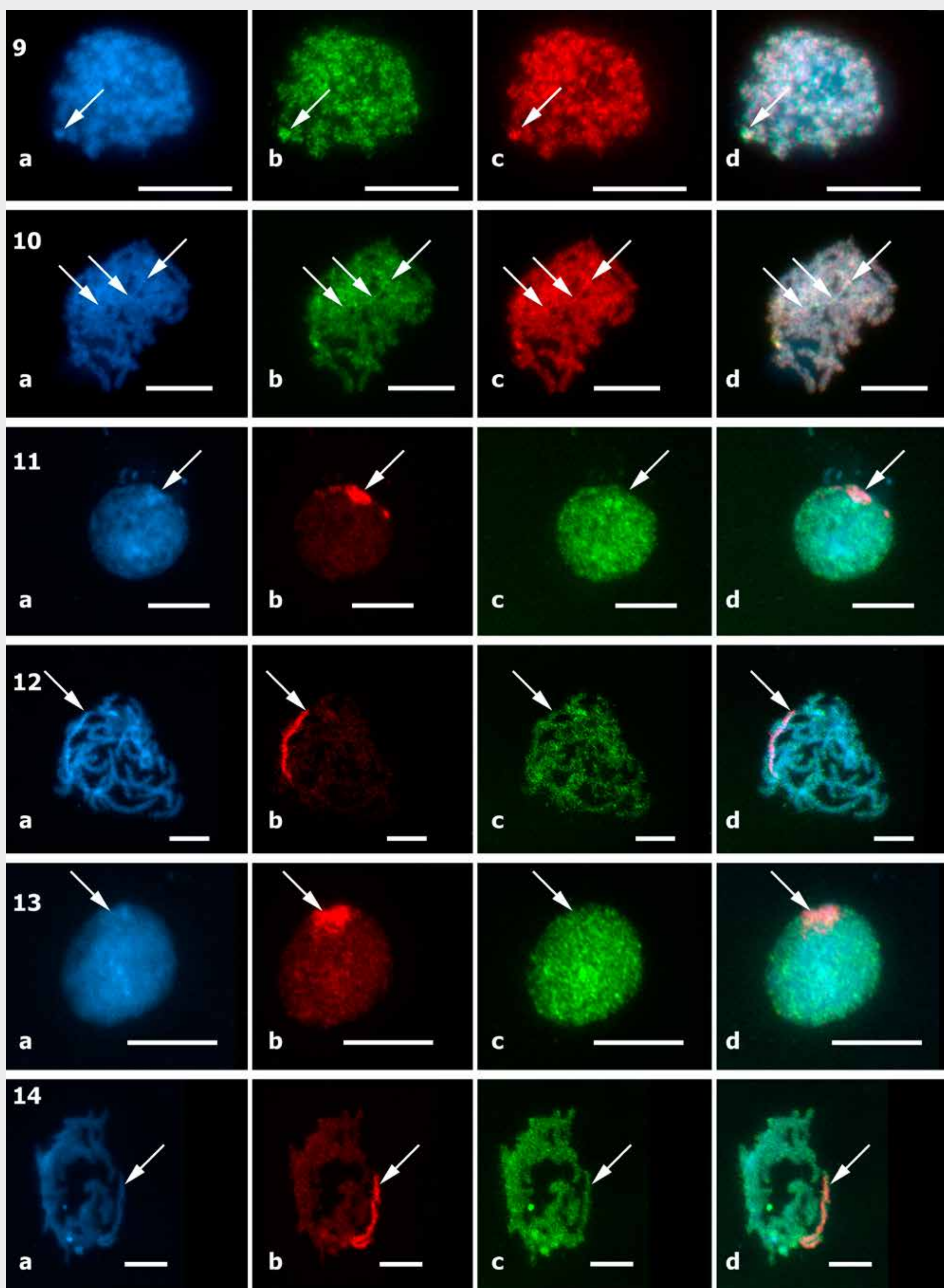


Obr. 1-2. Studovaný hmyz. 1. *Cameraria ohridella* 2. *Tischeria ekebladella*

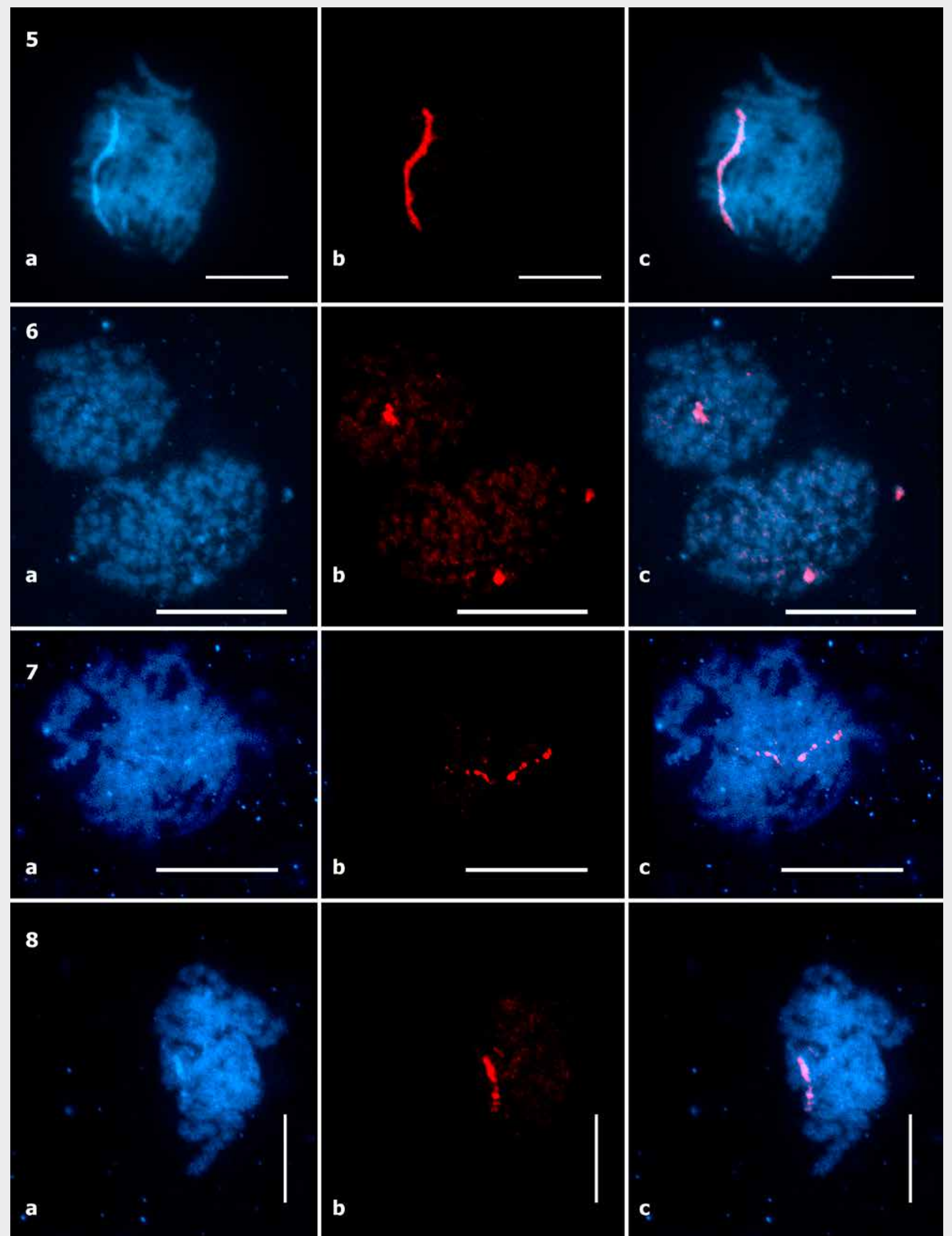
Výsledky



Obr. 3-4. Orceinem barvené preparáty. Měřítka představuje 10 μ m.
3. Nutritivní buňka. Šipka označuje heterochromatinová tělíčka.
4. Pachytenní oocyt. Šipka označuje WZ bivalent.



Obr. 5-8. FISH s W malovací sondou. **Figury a)** DAPI **b)** sonda značená fluorochromem Cy3 **c)** složený obrázek. Měřítka odpovídá 10 μ m. 5. Pachytenní chromozomy *T. ekebladella* 6. Interfázni jádra *C. ohridella*, hlavní hybridizační signál zvýrazňuje heterochromatinové tělíčko. 7-8. Pachytenníoocyt *C. ohridella*



Obr. 9-14. CGH s celogenomovou sondou. Měřítka představuje 10 μ m. **Figury a)** DAPI (modrá) **b)** samičí sonda **c)** samčí sonda **d)** obrázek složený ze všech tří vrstev 9-10. *C. ohridella* 9. Interfázni jádro. 10. Pachytenní chromozomy. 11-12. *T. ekebladella* podle starého protokolu. 11. Raná profázemeiózy s vyznačeným heterochromatinem. 12. Pachytenníoocyt. Samičí DNA silně značí W chromozom. 13-14. *T. ekebladella* podle nového protokolu. 13. Raná profáze meiózy. 14. Pachytenní chromozomy.

Závěr

- Prohlížením orceinem barvených preparátů pod mikroskopem s fázovým kontrastem jsem na základě silnějšího zbarvení W chromozomu zjistil, že je tvořen heterochromatinem, kdežto chromozom Z je tvořen euchromatinem a stejně tak autozomy.
- Metodou FISH s W celochromozomovou malovací sondou jsem u *T. ekebladella* získal homogenní signál po celé délce chromozomu W, což naznačuje, že tento chromozom je tvořen vysoce repetitivními sekvencemi, které jsou na něm akumulované. Signál se u *C. ohridella* vyskytoval v 2-7 blocích v závislosti na kondenzovanosti chromozomu, a také v menším zastoupení na autozomech, z čehož vyplývá, že W chromozom je tvořen více druhy sekvencí různého charakteru, které se v menším zastoupení nachází i jinde po genomu.
- CGH ukázala, že u *C. ohridella* značily obě sondy, samčí i samičí, chromozom W ne o moc silnějším signálem, než autozomy a chromozom Z, kdežto u *T. ekebladella* byl silně odlišen samičí sondou. To znamená, že chromozom W *C. ohridella* je tvořen repeticemi, které se vyskytují běžně po genomu, a které jsou W chromozomu sice akumulované, ale ne nijak výrazně, a že u *T. ekebladella* se na chromozomu W nachází W specifické sekvence nebo sekvence tvořené repeticemi, které jsou sice na některých autozomech, ale ve velmi malém množství.