

Oponentský posudek na diplomovou práci Evy Martincové

Eva Martinčová vypracovala pod vedením Mgr, Pavla Doležala, PhD. diplomovou práci na téma „Import proteinů do mitosomů *Giardia intestinalis*“. Diplomová práce se zabývá identifikací proteinu, který zajišťuje transport přes vnitřní mitosomální membránu a bližší charakterizací proteinu GiSec61alpha u diplomonády *Giardia intestinalis*.

Práce má standardní členění – obsahuje literární přehled, cíle práce, souhrn použitých metod a materiálů, výsledky, diskuzi a závěr.

V literárním přehledu autorka shrnuje známé poznatky o evoluci mitochondriálního genomu a importu proteinů do mitochondrií. Dále se věnuje importu proteinů do hydrogenosomů a mitosomů. Studium mechanismů importu proteinů do mitochondrií a mitosomů pak představuje jako vhodný nástroj k pochopení evoluce eukaryotické buňky. Autorka je v literárním úvodu doslova pohlcena studovanou tematikou, což bych chtěl dokumentovat citací textu na straně 10:

„Je pravděpodobné, že hostitelská buňka zpočátku využívala stávajících bakteriálních translokáz, které postupně buď zotročovala ve svůj prospěch, případně nahrazovala některé bakteriální proteiny dokonalejšími eukaryotickými.“

Celá diplomová práce je nicméně psána velmi slušnou češtinou a až na několik půvabných pokusů o přiblížení studované tematiky a skloňování slova marker (bez markru – str. 4,) neobsahuje vážnější prohřešky vůči mateřskému jazyku. Uvedené příklady ostatně zmiňuji pouze proto, abych ukázal, že jsem práci četl.

Kapitola Materiál a metody popisuje úctyhodnou sbírku použitých organismů i metod, která podle mě vysoce přesahuje požadavky kladené na diplomovou práci. I přesto bych si troufnul vytknout, že tato kapitola není kompletní. V popisu metod zcela chybí použité metody bioinformatické – alignment proteinových sekvencí lze dělat mnoha různými metodami a výsledky budou, věru, velmi rozdílné. Obdobně chybí jakékoliv informace o konstrukci fylogenetického stromu, který je jedním z významných výsledků diplomové práce. Autorka se omezuje na konstatování, že strom byl připraven metodou

maximum likelihood. Na základě uvedené citace se lze domnívat, že šlo o program PhyML ve verzi 3.0. Podle abstraktu citovaného článku se zdá, že program používá v jednom kroku i parsimonii metodu, takže je informace ve výsledcích trochu zavádějící. I přesto mi však chybí informace o tom, jak byly vybrány sekvence, které byly použity a informace o konstrukci multiple sequence alignmentu, který je vstupem pro většinu fylogenetických metod.

V sekci Výsledky jsem nebyl schopen dobře sledovat souslednost prováděných experimentů a jejich cíl. Ocenil bych také pokud by byly dosažené výsledky trochu zdůrazněny, i když jsou třeba negativní. Několikrát jsem se musel v textu vrátit, abych se dozvěděl, jak popisovaný experiment vlastně dopadl.

Diskuze shrnuje pečlivě dosažené výsledky a interpretuje je, myslím, velmi zdařilým způsobem. V diskuzi mi však chybí zhodnocení významu nálezu interakčních partnerů popsanych v Tabulce 3.

Kvalita předkládané obrazové dokumentace je v celé práci vysoká, a to jak u schémat, tak u výsledků experimentální práce. Popisky bych však ocenil informativnější. Seznam zkratk neobsahuje všechny v textu uvedené zkratky – např. zkratku pro chloroplasty (str. 41). Autorka v textu velmi dobře pracuje s literaturou, cituje relevantní práce, a to jak ty úplně nejnovější, tak práce relativně staré.

Celkově však jde o velmi poctivou práci, autorka se seznámila se skutečně vysokým počtem pokročilých metod, interpretovala získané výsledky, a proto předkládaná práce splňuje požadavky kladené na diplomovou práci, práci jednoznačně doporučuji k obhájení.

K práci mám následující otázky:

1. Na straně 12 zmiňujete, že by bakteriální translokáza LivH mohla být homologem translokázy Tim 23. Poté však uvádíte, že je Tim 23 eukaryotickou evoluční novinkou, pokud jsem pochopil správně. Z čeho bylo usuzováno, že by LivH a Tim 23 mohly být homology? Jaka je typická sekvenční identita mezi Tim 23 a LivH
2. Z výsledků s antifoláty usuzujete, že proteiny jsou přes mitosomalní membrány transportovány v nesbaleném stavu. Máte nějakou představu

- o mechanismu transportu přes mitochondriální kanál? Jak je například využívám membránový potenciál u Tim komplexu?
3. Jde nějak kvantifikovat výsledky získané z lokalizací fůzních proteinů? Přesouvá se do cytosolu po aplikaci metotrexátu skutečně všechen fůzní protein?
 4. Můžete stručně popsat, jak byl získán fylogenetický strom? Jak jste vybírali sekvence, jak jste získali alignment? Jak byla provedena bootstrap analýza?
 5. Nemůže být příčinou obtíží s identifikací obou variant genu GiSec61 skutečnost, že je dlouhá varianta exprimována jen za specifických podmínek?
 6. Je GiSec61alpha tou vámi hledanou chybějící translokázou přes vnitřní mitosomální membránu *Giardia intestinalis*? Jde homology tohoto proteinu najít i u dalších organismů s mitosomy?

V Praze dne 28.5.2012

Marian Novotný

