

Úloha SNARE proteinů v biogenezi mitosomů *Giardia intestinalis*

Po věcné stránce jde o velmi zajímavou práci, jejíž téma je vysoce aktuální. Membránové fúze, ke kterým dochází mezi buňkami, mezi intracelulárními organelami a buněčnou membránou nebo mezi nimi navzájem a úloha jednotlivých proteinů v těchto procesech je v současné biologii i medicíně velmi studovaným tématem. Např. defekty v dynamice mitochondrií (fúze/dělení) souvisí s patogenezí neurodegenerativních onemocnění. Pozoruhodný je rovněž mechanismus, kterým jsou účastnické proteiny navigovány k ukotvení v jednotlivých buněčných kompartmentech. I to je téma, které autor ve své diplomové práci na modelu *Giardia intestinalis* studoval. Během práce autor zvládl řadu experimentálních metod počínajíc kultivací přes sofistikovanější techniky přípravy rekombinantního proteinu, imunodetekci proteinu, přípravu řady konstruktů.

Po formální stránce lze práci vytknout poměrně málo. Vlastní zpracování diplomové práce je na velmi dobré úrovni a kopíruje styl rukopisu publikace. Literární přehled vyčerpávajícím způsobem bez zbytečných odboček čtenáře uvádí do studované problematiky, cíle jsou jasně formulované, metodická kapitola je přehledně sepsaná, výsledky jsou dobře zpracované, rovněž diskuze svědčí o tom, že autor je schopen dát vlastní výsledky do kontextu s publikovanými údaji. Seznam literatury je obsáhlý a zahrnuje všechny důležité publikace. Svědčí o velmi dobré orientaci autora v odborné literatuře ke studovanému tématu.

Pokud jde o výtky k formálnímu zpracování diplomové práce, uvádím některé spíše pro úplnost recenze.

Občas se autor v některých větách, kde používá několik zkratk, trochu ztrácí a věty jsou těžko uchopitelné (např. str. 38: Po značení kmene *G. intestinalis* overexprimujících *GiSec20* s HA tagem anti-HA a anti-GiSec20 protilátkami jsme pozorovali...).

Chyba na titulní straně v anglickém překladu názvu práce: "... a SNARE proteins"

Překlepů je minimálně, ale najdou se:

str. 13: protézy (vs. proteázy)

str. 40: intestnalis

str. 43: intsetinalis

str. 47: oragenlách, endoplasmtickém, „částečná“ přítomnost

Materiál a metody. V podkapitole „Hrubá frakcionace“ chybí specifikace ST pufru a koncentrace inhibitorů proteáz 1 µl/ml není příliš informativní.

Popisy k obrázkům:

obr. 12, 14: U popisů k Western blotům je poněkud zmatek v používání zkratk: na obr. 12 je LGF označena jako P, na obr. 14 jako LGF. Navíc označení LGF (large granule fraction) pro pelet, který obsahuje membránové organely, jádra a cytoskelet, je zavádějící

Seznam použité literatury neobsahuje téměř žádné chyby, tím se liší od většiny prací, a to nejen diplomových. Pouze tečky za křestním jménem nejsou dodržovány rigorózně a v seznamu je uvedena práce Elias et al. 2008b (ale žádná práce od Elias et al. 2008a v seznamu literatury není, i když je opakovaně v textu citována na str. 16, 47)

Dotazy:

1. str. 15: *Giardia intestinalis* způsobuje průjmová onemocnění obratlovců: kterých kromě savců?
2. Obr. 19: pro demonstraci redukce počtu mitosomů jsou použity stejné snímky jako na obr. 17D/E. U jakého procenta transfekovaných buněk k redukci počtu mitosomů došlo? Kolik buněk bylo analyzováno? Je redukce vždy spojena se shlukováním mitosomů do větších celků? Souvisí redukce počtu mitosomů s dělením?
3. V buňkách, ve kterých jsou větší agregáty mitosomů (obr. 17A, 17C, 17E) není centrální mitosomální organela. Naopak v transfekovaných buňkách na obr. 17B a 17D, kde zvětšené mitosomální agregáty nejsou a velikost mitosomů je normální, centrální mitosom je. Koreluje absence centrálního mitosomu s tvorbou mitosomálních agregátů v jiných částech buňky? Koreluje hladina exprese s agregací mitosomů?
4. Do jaké míry je 2+ náboj na C-konci proteinu specifický pro cílení do vnější mitochondriální membrány (str. 40)?
5. Ve výsledcích je zmínka o tom, že u transfektantů dochází k dramatickému snížení růstu. Co to znamená?
6. Proč se autor domnívá, že obr. 23 demonstruje masivní fúzi ER?
7. Jaká je autorova představa o funkci Sec20 ve zralé cystě giardií tj. po vytvoření cystové stěny?

Závěr: Dle mého názoru předložená práce bez jakýchkoliv pochyb splňuje nároky kladené UK v Praze na diplomovou práci. Proto doporučuji, aby po úspěšné obhajobě byla přijata jako součást závěrečné zkoušky magisterského studia.