

Posudek školitele na diplomovou práci Lucie Bardoňové:

Komplex I dýchacího řetězce v hydrogenosomech *Trichomonas vaginalis*.

Lucie nastoupila do naší laboratoře v době, kdy jsme s kolegou Hrdým, studovali nečekaný objev dvou subjednotek katalytického modulu komplexu I mitochondriálního typu v genomu *T. vaginalis*. V rámci této studie jsme rychle potřebovali znát buněčnou lokalizaci těchto podjednotek a jako nejrychlejší postup jsme zvolili transfekci trichomonád vektorem, který umožňuje expresi proteinu našeho zájmu s C-koncovou značkou (tagem), který lze snadno detegovat pomocí specifické monoklonální protilátky. Tento postup, v době kdy k nám nastoupila Lucie, nebyl zdaleka rutinním postupem a dosud jen několik málo laboratoří zvládá na modelu trichomonád tuto strategii. Lucie od začátku postupovala velmi pečlivě a cílevědomě a tento první obtížný úkol zvládla velmi rychle. Díky tomuto dílčímu, avšak důležitému výsledku se stala spoluautorkou na publikace v časopise Nature, který byl vloni oceněn cenou rektora UK.

V dalších fázích diplomové práce již neměla takové štěstí a přes veškeré úsilí se jí nepodařilo odhalit další očekávané subjednotky komplexu I. Vytýpované membránové subjednotky silně vzdorovaly veškerým pokusům o jejich expresi, snaha o kopurifikaci dvou známých subjednotek s dalšími komponentami byly rovněž negativní. I negativní výsledek je však důležitým výsledkem, i když jeho publikovatelnost není tak snadná.

V mezičase byla publikována práce o Komplexu I v hydrogenosomech skupinou P. Johnson, která ukazovala, že komplex I tvoří superkomplex s dalšími hydrogenosomálními enzymy, především jablečným enzymem PFO. Kromě identifikace dalších subjednotek komplexu I se Lucie proto pokusila rovněž ověřit komponenty tohoto superkomplexu. Pomocí kombinací několika technik včetně BNE Lucie ukázala, že komplex I funguje samostatně a superkomplex patrně netvoří.

Významným metodickým přínosem je propracování metod pro purifikaci rekombinantních proteinů z *T. vaginalis*, pomocí afinitní chromatografie, která může mít další obecnější uplatnění pro produkci proteinů.

Vlastní stvárnění literárního díla přenechávám oponentovi, musím však ocenit že sepsování diplomové práce Lucie nepodcenila, začala včas a tak i výsledek je velmi kvalitní.

Práci vřele doporučuji k přijetí jako magisterskou diplomovou práci.

V Praze dne 20 května

Doc. RNDr. Jan Tachezy, Ph.D.