

Katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta UK v Praze

Doc.RNDr. Jan Konvalinka CSc.

Telefon 220183 218
fax 220183547
e-mail konval@uochb.cas.cz

Oponentský posudek diplomové práce sl. Tamary Smutné „Characterization of flavodiiron protein from *Trichomonas vaginalis* hydrogenosomes“

Diplomová práce Tamary Smutné se zabývá mimořádně zajímavým modelem, hydrogenosomy *Trichomonas vaginalis*. Školící laboratoř na tomto modelu dosáhla řady mimořádných výsledků publikovaných ve špičkových časopisech, a patří v oboru jednoznačně ke světové špičce. Kolegyni Smutné lze proto na prvním místě gratulovat k velmi dobré volbě školícího pracoviště.

Práce Tamary Smutné si kladla za cíl charakterisovat ferredoxin: oxygen oxidoreduktasu, identifikovat její flavinový kofaktor, lokalizovat protein v buňce pomocí imunochemických method a pokusit se odhalit jeho fyziologickou funkci. Je možno konstatovat, že všech těchto cílů, značně ambiciosních pro diplomovou práci, bylo dosaženo. Z práce je vidět, že si diplomantka osvojila značnou šířku experimentálních technik, od práce s rekombinantní DNA po purifikaci proteinů, tenkovrstevnou chromatografii a spektrofotometrické techniky.

K práci mám přesto celou řadu formálních připomínek a několik dotazů k diskusi:

Formální připomínky:

- metodická část je psána trochu prvoplánově jako návod k praktiku spíše než záznam experimentálního postupu, včetně pedagogických pokynů (str. 39 a jinde). Chápu, že diplomová práce se stává příručkou dalším studentům, ale přesto bych doporučoval metody spíše popisovat než psát návody;
- výrobce a dodavatelé řady chemikálií nejsou uvedeni. Nejde jen o formální připomínku; u řady koenzymů, kitů a médií je identifikace výrobce a šarže klíčová pro reprodukovatelnost experimentu;
- popis SDS PAGE (str. 30) je nedostatečný (pufry, koncentrace, síťování gelu...), stejně jako popis purifikace FOO

-některé části Metod by patřily spíše do Výsledků, možná i diskuse (výklad o hledání interakčního partnera FOO na straně 52, Tabulka 1 na str. 41)
-popis většiny obrázků považuji za nedostatečný. Obrázky by měly mít legendu, která by měla umožnit porozumění i bez složitého hledání v textu;
-ačkoli souhlasím s diplomantkou, že kofaktorem FOO je skutečně nejspíš FMN, jeden experiment na TLC s použitím dvou standardů na prokázání této skutečnosti sám o sobě nestačí.

K diskusi mám následující dotazy:

- 1/ Jaká byla čistota a výtěžek rekombinantního ferredoxinu z *T. vaginalis* (str. 65)?
- 2/ Resistentní *T. vaginalis* produkují méně FOO než ty, které jsou citlivé k metronidazolu. Dochází u nich ke zpomalování replikace?
- 3/ Může diplomantka naznačit svou představu, co je přirozeným donorem elektronů pro FOO?

Závěrem rád konstatuji, že předkládanou diplomovou práci považuji za vyhovující všem formálním nárokům a plně ji doporučuji ji k obhajobě na katedře biochemie PŘF UK.

V Praze, 26.5. 2006

Jan Konvalinka

