

Diplomová práce Kateřiny Pilařové „ Charakterizace železo-sirných flavoproteinů z hydrogenosomu *Trichomonas vaginalis*“

Posudek školitele

Diplomová práce Káti Pilařové byla zadána jako čistě experimentální práce základního výzkumu. Svým tématem navazovala na problematiku biochemie trichomonád a zejména hydrogenosomu, jež je v naší laboratoři molekulární a biochemické parazitologie dlouhodobě studována. Konkrétním úkolem Káti bylo zjistit, k čemu jsou trichomonádě dobré železosirné flavoproteiny, jejichž geny byly identifikovány v rámci sekvenování genomu lidské trichomonády. Jednalo se v podstatě o průkopnickou práci, protože strukturně podobné železosirné flavoproteiny jsou sice známy z různých anaerobních bakterií, ale jejich funkce byla studována pouze v jediném případě, a v rámci eukaryot jde o zcela unikátní proteiny - dosud byly jejich geny nalezeny pouze u trichomonád a entaméb. Z tohoto hlediska měla Káťa těžkou práci: studovat protein, o němž je málo literatury a o jehož funkci se něco ví u jedné bakterie, ale rozhodně nic kdekoliv jinde. Z hlediska metodického ale měla Káťa práci přinejmenším jednoznačně definovanou a značně usnadněnou tím, že cestu ke studiu funkce proteinu bakteriálního původu z hydrogenosomů nedávno úspěšně prošlapala Tamara Smutná, která v rámci své diplomové práce charakterizovala terminální oxidázu trichomonády. Navíc Tamara Kátě na začátku i v závěru její experimentální práce vydatně pomáhala radami i morální podporou, a nebýt této podpory, nevím, jak by to nakonec celé dopadlo, protože neutuchající zaujetí pro proteinovou biochemii, samostatnost a účelné využívání času nepatří mezi nejsilnější Kátiny vlastnosti. Času měla Káťa hodně, protože si studium prodlužovala, a jsem přesvědčen, že při odpovídajícím pracovním nasazení by dnes nepředkládala prostou diplomovou práci, ale měla by přinejmenším rukopis publikace. Káťa se alespoň sama pustila do experimentů s qRT-PCR a pokoušela se o statistické vyhodnocení výsledků. Zpočátku, kdy se zdálo, že experimenty se budou dařit a přímočaře povedou k cíli, Káťa k práci přistupovala se sympatickým entuziazmem a o výsledcích referovala na místních i zahraničních konferencích, ale když se objevily pochybnosti, zda má rekombinantní protein skutečně předpokládané fyzikálně chemické vlastnosti, optimismu a zvýšeného pracovního úsilí se najednou nedostávalo.

Výsledkem diplomové práce je tedy soubor objevených dat, z nichž vyplývá, že studovaný protein pravděpodobně v hydrogenosomu funguje jako terminální oxidoreduktáza s širší substrátovou specifitou a detoxifikační funkcí. Zjištěné spektrum aktivit je bohatší než u jediného studovaného bakteriálního homologu a po pečlivém dokončení experimentů (na němž nyní pracuje Tamara Smutná) je pravděpodobné, že výsledkem bude kvalitní publikace.

Káťa Pilařová během své diplomové zvládla práci s odbornou literaturou, i když vlastní sepsání nebylo zcela hladké a jen potvrzuje smutný trend, kdy se mateřský jazyk v písemné podobě stává studentům nepřátelským územím. Po stránce experimentální Kateřina dobře zvládla řadu základních i pokročilých metod, včetně kultivačních, molekulárně biologických, biochemických i imunologických a dospěla k výsledkům, na jejichž základě navrhla a ve světle dostupných dat kriticky diskutovala fyziologickou funkci necharakterizovaného proteinu. Nakonec tak předložila kvalitní spis, který si, podle mého názoru, zaslouží být obhájen před plénem katedry parazitologie.