

Posudek k bakalářské práci Jiřího Týče

FUNCTIONAL ANALYSIS OF THE YCF 45 GENE IN THE PROCYCLIC *TRYPANOSOMA BRUCEI*

Bakalářská práce se zabývá studiem funkce genu označovaného jako YCF 45 v buňce *T. brucei*. Tento gen patří do skupiny specificky plastidových genů, u nichž není známá funkce. Vzhledem k tomu, že *Trypanosoma* nemá plastid, ale otázka, zda jej v minulosti měla, je stále otevřená, je studium tohoto genu zajímavé nejen z hlediska funkčního (Co a kde dělá v organizmu bez plastidu?), ale také evolučního (Je pozůstatkem plastidu?). Autor si vytkl za cíle zjistit, zda vypnutí exprese genu pro YCF 45 v buňce *T. brucei* ovlivní růstový fenotyp, jaká je lokalizace produktu YCF 45 v buňce a konečně, kde je evoluční původ tohoto genu.

Práce je psaná anglicky a je na slušné jazykové úrovni. Několik překlepů a chyb, které jsem objevil, uvádím na závěr posudku. Jejich množství je vzhledem k rozsahu práce malé. Práce má klasické členění. V úvodu autor seznamuje čtenáře stručně ale dostatečně s patřičnou problematikou. K této kapitole bych měl dvě faktické poznámky. (1) Není pravda, že všechna euglenoida mají sekundární chloroplast (strana 1, řádek 11-12). Chloroplast nacházíme jen u podskupin Euglenales a Eutreptiales, které tvoří pravděpodobně monofyletickou vnitřní skupinu euglenidů. (2) Horizontální genový přenos a laterální genový přenos jsou synonyma pro tentýž jev a nikoli dvě možnosti, jak se gen může dostat do organizmu (strana 2, řádek 2).

Kapitola materiál a metody dokazuje, že autor zvládnul značné množství sofistikovaných molekulárních metod, k čemuž mu gratuluji. Postupy jsou zde podrobně popsány a nemám k nim žádné poznámky.

V kapitole výsledků autor přehledně prezentuje získané výsledky. Kapitola obsahuje celkem 13 obrázků. Obrázky jsou vesměs kvalitní s výjimkou obr. 14, u kterého by se podle mého názoru dalo zlepšit jednak rozlišení a také odstranit výrazné barevné pozadí. U některých obrázků mi schází podrobnější popisky. Například u obrázku 7 není jasné, co zobrazuje tmavý panel vlevo dole, u obrázku 16 bych zase uvítal uvedení metody konstrukce stromu a vysvětlení co znamenají hvězdičky na některých větvích. Faktický dotaz bych měl k obrázku 14, na kterém autor údajně ukazuje přítomnost YCF 45 výhradně v cytosolické frakci trypanosom. V řádcích s mitochondriálními frakcemi klonů N-1 a N-3 je přítom patrný jasný signál. Mohl by to autor nějak vysvětlit? Dále by mě zajímalo, proč jsou v cytosolické frakci klonu N+ vidět dva signály o různé velikosti. Poslední poznámku mám k fylogenetické

analýze. Sekvence všech nefotosyntetických zástupců (kinetoplastidů, oomycét a červa *Strongylocentrotus*) vytvořily na stromu velmi dlouhé větve, které se umístily mimo skupinu sinicových a chloroplastových homologů. Může to znamenat, že tyto geny nemají původ v plastidu, jak se domnívá autor, ale také to může znamenat, že výsledek analýzy je ovlivněn artefaktem přitahování dlouhých větví (LBA). Domnívám se, že dlouhé větve heterotrofů nebudou přirozené dlouhé větve tedy větve, jejichž délka je dána dlouhou samostatnou evoluční minulostí. Budou to spíše umělé dlouhé větve, jejichž délka je dána zvýšenou substituční rychlostí. Zvýšenou substituční rychlost bych u homologů, které ztratily původní funkci v plastidu dokonce očekával. Obávám se, že u těchto dlouhých větví nebude snadné nabýt jistoty, že skutečně leží mimo plastidovou skupinu. Bylo by rozhodně potřeba provést analýzy zaměřené na potlačení efektu LBA, např. analýzu bez dlouhé větve Firmicutes, odstraňování rychle mutujících pozic (slow-fast), analýzu pomocí modelů CAT a covarion. To vše je ovšem nad rámec této molekulárně biologicky laděné práce a není to tedy míněno jako výtku, ale spíše jako doplňující poznámka.

V kapitole diskuze autor vhodnou formou diskutuje své výsledky v celkovém kontextu. Drobnou výtku bych směřoval ke kapitole „conclusions“, kde autor tvrdí, že úspěšně vypnul YCF 45, ačkoli, jak správně uvádí dříve v diskusi, si tím nemůže být jist, protože neověřil expresi proteinu na western blotu.

Seznam literatury obsahuje 35 citací. Jednu citaci ze seznamu (Maslov a kol.) jsem nenašel v textu, ale jinak je seznam zpracován kvalitně.

Závěrem bych chtěl konstatovat, že bakalářská práce je podle mého soudu po formální i obsahové stránce kvalitní a doporučuji ji k obhajobě. Navrhuji hodnocení výborná.

Vladimír Hampel