

Školitelský posudek na magisterskou práci pana Bc. Tomáše Chrudimského: **Molecular characterization of novel symbiotic alveolate isolated from corals.**

Tomáš Chrudimský přišel do mojí laboratoře již jako student bakalářského studia. Téma jeho magisterské práce však v žádném případě nenavazuje na práci bakalářskou. Zatímco v bakalářské práci se věnoval molekulární fylogenezi kokcií, v magisterské práci si vzal za úkol molekulární charakterizaci symbiotického prvka a z korálů.

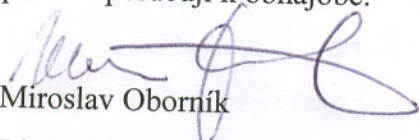
Prvky z korálů jsme začali studovat před 3 lety. Kmen RM12, na kterém pracoval Tomáš, je fotosyntetický prvek pravděpodobně příbuzný prvokům kmene Apicomplexa. Jde o organismus, který žije jako symbiont v korálech, stádium, které máme k dispozici v kultuře je však zřejmě volně žijící a jako volně žijící se množí a dá pěstovat v relativně jednoduchých živných mediích. Ultrastrukturní znaky ukazují, že studovaný prvok patří bez pochyby k alveolátům. Obsahují totiž alveoli a pás mikrotubulů, znaky typické pro Alveolata. Navíc je v buňce přítomen komplexní plastid obalený 4 membránami, stejně jako je tomu u plastidů apikomplex. Pigmentové složení je zcela unikátní a nebylo nalezeno v žádném jiném plastidu. Sekvence psbA genu ukázala, že RM12 používá alternativní kódování tryprofanu (UGA místo UGG), jev, který byl dosud nalezen pouze u plastidů z kokcií.

Cílem Tomášovy práce byla především amplifikace *cox1* genu, fylogenetická analýza tohoto genu a určení velikosti mitochondriálního genomu pomocí PFGE a hybridizace se specifickou mitochondriální sondou.

Samotná amplifikace *cox1* genu se ukázala být tvrdým oříškem. Variabilita genu je velmi vysoká, je neobvykle AT bohatý (více než ostatní geny z RM12) a jeho amplifikace se tak neobešla bez komplikací. Tomášovi se ale podařilo sekvenci tohoto genu získat, stejně jako sekvence dalších genů: cytosolického GAPDH, a dvou histonů (H2A, H2B). Nicméně lze konstatovat, že jejich použití pro fylogenezi nepřineslo žádný zásadní a očekávaný přínos.

Tomáš Chrudimský v sobě spojuje dva zdánlivě neslučitelné rysy: výraznou schopnost hledat a zkoušet nové metodické postupy, kterou dostatečně prokázal v této práci (modifikované PCR k amplifikaci *cox1*; PFGE; zavedení práce s cDNA do laboratoře apod.) a značnou neorganizovanost. Ta se projevuje především tím, že podobně jako v případě bakalářské práce, i jeho magisterská práce je šitá horkou jehlou. Tendence dělat věci na poslední chvíli je asi nejhorší stránkou Tomášovy profesní osobnosti, i když musím přiznat, že tento fakt je obvykle motivován umíněnou snahou zařadit to práce i ty nejrecentnější výsledky. Nicméně je nutno přiznat, že Tomášova diplomová práce je tímto aspektem k jeho vlastní škodě značně negativně ovlivněna. Množství laboratorní práce které Tomáš odvedl je však velmi solidní a nemělo by být přehlédnuto. Tomáš docílil značného metodického záběru,

od kultivace prvků, četné a systematické snahy o eliminaci bakterií přítomných v kultuře, přes modifikace postupů pro PFGE, komplikovaných aplikací PCR, přípravu cDNA a amplifikace genů z cDNA, sekvenace, sofistikované fylogenetické analýzy cílené k odstranění fylogenetických artefaktů (např. slow-fast metoda), i řadu dalších metod (Bayes, AU testy, PROTTEST, Modeltest, LogDet apod.). Mohu tedy jedině konstatovat, že Tomáš je výjimečný student, kterému by patrně pomohlo poněkud přísnější vedení. Jeho magisterskou práci doporučuji k obhajobě.



Miroslav Oborník

Biologická fakulta
Katedra molekulární biologie a biochemie
České Budějovice