

Mgr. Luděk Kořený  
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích  
Přírodovědecká fakulta  
Branišovská 31  
370 05 České Budějovice

[koreny@paru.cas.cz](mailto:koreny@paru.cas.cz)

### **Posudek školitele na bakalářskou práci Julie Kovářové „Detekce hemu u parazitických prvků skupiny Trypanosomatidae“**

Evoluce syntézy hemu u eukaryot je jedním z hlavních témat v laboratoři molekulární taxonomie zde na parazitologickém ústavu akademie věd. Syntéza hemu u prvků skupiny kinetoplastida je velice zajímavá. O intenzivně studovaných parazitických zástupcích je známo, že si nedokáží hem syntetizovat sami a musí jej tedy přijímat z prostředí. U trypanosom došlo k úplné ztrátě biosyntézy hemu, naproti tomu leishmanie mají geny pro poslední tři kroky syntézy, které byly ovšem získány horizontálním přenosem z bakterií. Jiná skupina hmyzích parazitů zase hostí vnitrobuněčné symbiotické bakterie, které svým hostitelům hem, nebo meziproducty syntézy hemu, dodávají. Jak je tomu u ostatních kinetoplastid, např. volně žijících bodonidů, není zatím známo téměř vůbec nic a je stále otázkou, kdy v průběhu evoluce došlo ke ztrátě schopnosti syntetizovat hem. Z tohoto důvodu nás začal zajímat také druh *Phytomonas serpens*, jelikož se jedná o prvoka, který představuje fylogeneticky samostatnou linii uvnitř trypanosomatid a má dosti odlišnou životní strategii. Jedná se totiž o parazita rostlin, který je přenášen hmyzem. Navíc se jedná o jediného známého zástupce trypanosomatid, který roste v definovaném médiu bez hemu, i když u něj nebyly nalezeny žádné endosymbiotické bakterie.

Cílem bakalářské práce Julie Kovářové bylo experimentálně testovat různé hypotézy o potřebě a schopnosti syntetizovat hem tímto prvokem. Jedna z možných hypotéz, která se nabízela, byla, že se jedná o jediného studovaného zástupce trypanosomatid, který má schopnost syntetizovat si vlastní hem. Potom by bylo nesmírně zajímavé zjistit, jakého původu jsou geny syntézy hemu. Jiné, pro mě osobně pravděpodobnější a navíc ještě zajímavější vysvětlení by bylo, že tento organismus ke svému životu hem vůbec nepotřebuje. Tato na první pohled divoká myšlenka není zas až tak nemožná, když si uvědomíme, že *P. serpens* získává energii výlučně tzv. aerobní fermentací a má nefunkční 3. a 4. komplex dýchacího řetězce, pro jejichž funkci je hem nepostradatelný.

K testování výše zmíněných hypotéz Julie využila hned několika experimentálních přístupů - separace extrahovaného hemu pomocí HPLC a jeho následná spektrofotometrická detekce; detekce hemu vázaného v proteinech pomocí nativní i denaturační elektroforézy; PCR amplifikace a klonování.

Julie se během řešení své bakalářské práce musela potýkat s faktem, že v naší laboratoři máme s některými z těchto metod málo zkušeností a chybí zde i nezbytné technické vybavení. Byla proto nucena využít pohostinnosti i jiných laboratoří a sice laboratoře molekulární parazitologie na Parazitologickém ústavu AVČR a laboratoře fotosyntézy na Mikrobiologickém ústavu AVČR v Třeboni. Velice rychle se na všech těchto pracovištích zorientovala a osvojila si výše zmíněné metody. Výsledky experimentů, které Julie provedla nastínily, že *P. serpens* ke svému životu hem skutečně nepotřebuje. Avšak v případě, že je hem do média přidán, je transportován do buněk. Jaký je osud hemu v buňkách, zda je inkorporován do proteinů a jaká je jeho případná funkce zatím zůstává otázkou. Díky

výsledkům které Julie během řešení své bakalářské práce získala je nyní mnohem zřetelnější, jakou cestou se budeme dále ubírat.

Rovněž musím Julii pochválit za to, že s dostatečným předstihem napsala, dle mého názoru, velmi kvalitní bakalářskou práci, ke které jsem měl jen málo připomínek.

Na závěr bych rád Julii popřál mnoho úspěchů v navazujícím magisterském studiu.

Předloženou bakalářskou práci vřele doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích, 23. 5. 2010

