

Review of master thesis of Petr Růžička entitled “Experimental examination of EFL and MATX eukaryotic horizontal gene transfers: co-existence of mutually exclusive transcripts predates functional rescue”

The master thesis of Petr Růžička is composed of short Introduction (8 pages + 5 pages of references) supplemented by a research article manuscript. The MS is well written and addresses an important question concerning rescue of *T. brucei* knockdowns by corresponding paralogues of EF1- α and EFL and MAT/MATX from haptophyte and photosynthetic euglenophyte, respectively. However, it is not clear what contribution of the author of the thesis to the manuscript is. Since Petr Růžička uses inappropriate citations in the Introduction (see below), while the same information is correctly cited in the MS, and when comparing the text of Introduction to the MS, I have misdoubts concerning his authorship of the MS. So, since the Introduction contains frequent typist's errors and also mistakes in English and in my opinion it is not well connected to the following manuscript, the question “Who wrote the manuscript?” appears important. I fully understand that master student would hardly write the manuscript in the present form by himself only, however, substantial participation on the MS writing or at least writing initial versions should be, in the case of chosen form of the thesis (short introduction + MS), required. Since there is first co-authorship of the MS shared with Jana Szabová, master candidate should also specify, which experiments were performed by him in particular. I am not sure of the University requirements, but the thesis should contain in the case of presented form (signed) contributions of authors.

Information which is in my opinion missing in the Introduction of the thesis is following: Since three sources of the genes of interest were used– haptophyte, photosynthetic euglenophyte and trypanosomatid, I would, in addition to information concerning trypanosomatid biology, expect analogous information about haptophytes and photosynthetic euglenophytes. Those are not mentioned in the Annotation of the thesis as well as in the Introduction. It looks like that the only important organism in this study is *T. brucei* and the source of EFL and MATX is not important. Since haptophytes as well as photosynthetic euglenophytes have passed through secondary endosymbiotic event in their evolutionary history their genes can originate in two eukaryotic sources- primary and secondary host nuclei. This particular knowledge could be essential to interpret the results in full range. So, what is the particular origin of haptophyte EFL and euglenophyte MATX? Does the sequenced haptophyte *Emiliania huxleyi* contain EFL as well? I would also appreciate the tree showing distribution of EF1- α and EFL among eukaryotes in the Introduction; the distribution within euglenozoans is not as much informative, since haptophyte gene was used to rescue *T. brucei* mutant.

Introduction

- 1) Taking into account that RNA editing is not a primary topic of this thesis, and it is itself mentioned in the thesis in a single sentence, I would replace Fig 1 that is irrelevant and even lacks any legend, by another figure, for instance that showing phylogenetic relationships and distribution of MAT/MATX and EF1 α /EFL among eukaryotes.
- 2) The sub-chapters within the Introduction should be numbered.
- 3) The description of the *T. brucei* life cycle lacks references to the figure. If the figure contains numbered stages within the life cycle, there should be references to these numbers in the text.

- 4) The paper cited (Armbrust et al., 2004) does not contain the information stated in the thesis (presence of both genes MAT and MATX in diatoms). The same information in the MS is cited correctly. Why?
- 5) The figure 4 lacks the name of taxonomic group in *T. pseudonana* MATX. The figure would be much better understandable, when regions for MAT and MATX respectively would be indicated.
- 6) Author states that the pattern of distribution of EF1- α and EFL highly reminiscent that of MAT and MATX. However, in the thesis, only that of EF1- α and EFL is shown (Figure 6). Moreover as already mentioned, this figure shows distribution of EF1- α and EFL in euglenozoans only, haptophytes are ignored.
- 7) In my opinion the only reasonable way to detect HGT is phylogenetic analysis. Codon usage is usually quickly changed when the gene is transferred to different genomic context. BLAST results are weak to search for HGT. Phylogenetic analysis is important to specify the origin of transferred genes, particularly in the case of organisms that are supposed to pass through secondary endosymbiotic event, where two eukaryotic nuclei are in play.
- 8) Part describing HGT is a bit confusing. Can you explain differences between endosymbiotic HGT and non-endosymbiotic HGT in details?
- 9) List of references is chaotic and mixed up; references are not in alphabetical order as required. Some references are repeated in the list.

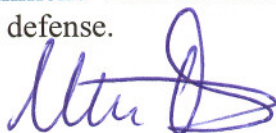
Manuscript

- 1) Why have the authors chosen haptophyte EFL in particular? It is not mentioned neither in the thesis and the manuscript. It should be also explained why the genes were obtained from genomic DNA in the case of haptophyte while cDNA approach was used for euglenophyte. Can you show the EFL sequence you have amplified aligned to the reference sequence? (AAV34146).
- 2) Have you checked the changes of morphology in EFL containing *T. brucei* also by electron microscopy?
- 3) Supplementary figures should be enclosed to the thesis!

Summary:

The thesis is composed of short introduction and attached manuscript. Since master thesis is also aimed to show ability of master candidate to write scientific text, such composition requires substantial participation of the author to the writing and composing the manuscript. The contribution of Petr Růžička on writing the MS is unclear and is not stated in the thesis. I hope this gap will be filled up during the thesis defense. The manuscript is well written and conclusions are clear and concise. Out of spite of my doubts concerning the author contribution I recommend work of Petr Růžička for defense hoping that my doubts will disperse during the defense.

Miroslav Oborník



Biology Centre ASCR
Institute of Parasitology
Branišovská 31
37005 České Budějovice



20. května 2010, Praha

Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci:

Bc. Petr Růžička (2010) Experimental examination of EFL and MATX eukaryotic horizontal gene transfer: co-existence of mutually exclusive transcripts predates functional rescue (Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích, Přírodovědecká fakulta)

Téma práce Petra Růžičky se dotýká velice zajímavého a nedostatečně probádaného problému současné evoluční biologie, a to role horizontálního transferu genů (HGT) v evoluci eukaryotických organismů. Práce se konkrétně zabývá dvěma univerzálně přítomnými a funkčně důležitými genovými rodinami EF-1 α /EFL a MAT/MATX, jež je možno na základě předchozích výzkumů považovat za modelové skupiny genů pro studium HGT u eukaryot. Každá z rodin zahrnuje dva zřetelně odlišené subtypy (EF-1 α versus EFL, MAT versus MATX), které se téměř nikdy nevyskytují společně u jednotlivých druhů eukaryot, ovšem oba subtypy je obvykle možno nalézt u různých druhů téměř každé větší fylogenetické linie eukaryot. Tato fylogeneticky neobvyklá distribuce vyžaduje komplexní evoluční scénář zahrnující dávnou genovou duplikaci následovanou selektivními ztrátami jednoho nebo druhého paralogu v různých liniích, HGT mezi liniemi následovaný ztrátou původního subtypu, nebo kombinaci obou procesů. Smyslem práce bylo posoudit možnou roli HGT těchto genů na základě studia efektů experimentálního vnesení alternativních subtypů do modelového organismu *Trypanosoma brucei*, který endogenně kóduje MAT a EF-1 α . Jmenovitě byl posuzován dopad vnesení genů MATX nebo EFL na životaschopnost transformovaných klonů *T. brucei* a schopnost těchto cizorodých genů komplementovat funkci endogenních subtypů po experimentálně navozeném snížení jejich exprese. Výsledky ukázaly nulové dopady exprese cizorodého subtypu MATX na životaschopnost *T. brucei* a jeho funkční ekvivalenci s endogenním MAT, zatímco vnesení genu EFL vedlo ke snížení životaschopnosti transformovaných klonů a neprokázalo schopnost funkčně komplementovat deficienci endogenního EF-1 α . Tyto výsledky jsou nesporně zajímavé a přinášejí nové a důležité argumenty pro debatu o roli HGT v evoluci genových rodin EF-1 α /EFL a MAT/MATX.

Přes tyto pozitivní aspekty práce však musím s nevelkou radostí konstatovat, že práce v podobě, v níž byla předložena, trpí řadou velice vážných nedostatků, které není možné pominout při jejím celkovém hodnocení. Uspořádání práce se vymyká obvyklé podobě magisterských diplomových prací, jelikož je z větší části tvořena rukopisem odborného článku s explicitním spoluautorstvím dalších osob vedle samotného diplomanta. Toto samo osobě problémem není, je však nezbytné, aby pak byl v práci přesně specifikován vlastní podíl Petra Růžičky na přiloženém článku. Petr Růžička je jeho prvním autorem, manuskript ovšem uvádí, že druhý autor v pořadí (Jana Szabová)



20. května 2010, Praha

Oponentský posudek na magisterskou diplomovou práci:

Bc. Petr Růžička (2010) Experimental examination of EFL and MATX eukaryotic horizontal gene transfer: co-existence of mutually exclusive transcripts predates functional rescue (Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích, Přírodovědecká fakulta)

Téma práce Petra Růžičky se dotýká velice zajímavého a nedostatečně probádaného problému současné evoluční biologie, a to role horizontálního transferu genů (HGT) v evoluci eukaryotických organismů. Práce se konkrétně zabývá dvěma univerzálně přítomnými a funkčně důležitými genovými rodinami EF-1 α /EFL a MAT/MATX, jež je možno na základě předchozích výzkumů považovat za modelové skupiny genů pro studium HGT u eukaryot. Každá z rodin zahrnuje dva zřetelně odlišené subtypy (EF-1 α versus EFL, MAT versus MATX), které se téměř nikdy nevyskytují společně u jednotlivých druhů eukaryot, ovšem oba subtypy je obvykle možno nalézt u různých druhů téměř každé větší fylogenetické linie eukaryot. Tato fylogeneticky neobvyklá distribuce vyžaduje komplexní evoluční scénář zahrnující dávnou genovou duplikaci následovanou selektivními ztrátami jednoho nebo druhého paralogu v různých liniích, HGT mezi liniemi následovaný ztrátou původního subtypu, nebo kombinaci obou procesů. Smyslem práce bylo posoudit možnou roli HGT těchto genů na základě studia efektů experimentálního vnesení alternativních subtypů do modelového organismu *Trypanosoma brucei*, který endogenně kóduje MAT a EF-1 α . Jmenovitě byl posuzován dopad vnesení genů MATX nebo EFL na životaschopnost transformovaných klonů *T. brucei* a schopnost těchto cizorodých genů komplementovat funkci endogenních subtypů po experimentálně navozeném snížení jejich exprese. Výsledky ukázaly nulové dopady exprese cizorodého subtypu MATX na životaschopnost *T. brucei* a jeho funkční ekvivalenci s endogenním MAT, zatímco vnesení genu EFL vedlo ke snížení životaschopnosti transformovaných klonů a neprokázalo schopnost funkčně komplementovat deficienci endogenního EF-1 α . Tyto výsledky jsou nesporně zajímavé a přinášejí nové a důležité argumenty pro debatu o roli HGT v evoluci genových rodin EF-1 α /EFL a MAT/MATX.

Přes tyto pozitivní aspekty práce však musím s nevelkou radostí konstatovat, že práce v podobě, v níž byla předložena, trpí řadou velice vážných nedostatků, které není možné pominout při jejím celkovém hodnocení. Uspořádání práce se vymyká obvyklé podobě magisterských diplomových prací, jelikož je z větší části tvořena rukopisem odborného článku s explicitním spoluautorstvím dalších osob vedle samotného diplomanta. Toto samo osobě problémem není, je však nezbytné, aby pak byl v práci přesně specifikován vlastní podíl Petra Růžičky na přiloženém článku. Petr Růžička je jeho prvním autorem, manuskript ovšem uvádí, že druhý autor v pořadí (Jana Szabová)

„několik...“, tedy „a few...“), tak největším problémem je zde odkaz na práci „Anderson, 2005“, jež nejen že se MATX a jeho distribucí nezabývá, ale navíc vyšla několik let předtím, než MATX byl vůbec definován (viz Sanchez-Perez et al., 2008). Podobných chybných citací je možno v práci (přesněji osmistránkové části „Introduction“) najít více.

Čtvrtý oddíl úvodu, pojednávající o rodině EF-1 α /EFL, rovněž nepřináší očekávané podrobnosti a obsahuje chyby. Autor si například nebyl schopen pohlídat, aby správně uváděl název samotného EF-1 α , téměř všude namísto toho uvádí „EF1- α “, což jednoduše není správný tvar. Další problém lze nalézt v následující větě:

„In Bacteria, was found that the homologue of EF1- α called EF-Tu is encoded by two nearly identical but unlinked genes - tufA and tufB (Jaskunas et al., 1975).“

Netuším, proč se autor rozhodl citovat zrovna 35 let starou práci, která se navíc týká výhradně bakterie *Escherichia coli*. Od té doby literatura o EF-Tu pochopitelně obrovsky narostla a kdyby se autor pokusil najít nějakou novější přehledovou práci (například článek Margus et al., 2007, BMC Genomics 8:15), tak by zjistil, že jeho tvrzení je velice zavádějící, protože většina bakterií nese jen jeden gen pro EF-Tu (s občasnými duplikacemi jen v některých liniích). Nerozumím také smyslu z literatury převzatého obrázku s mnohočetným přiřazením pěti proteinových sekvencí EF-1 α (Fig. 5), který neukazuje vůbec nic podstatného. Nebylo by názornější přiložit alignment zahrnující sekvence EF-1 α i EFL? Dále vůbec nechápu, jak mohl autor v očekávaném obecném úvodu o EF-1 α /EFL citovat pouhé dvě práce o evoluci EFL a zcela tak opomenout těch několik málo dalších, vesměs klíčových. Chybí tak citace průlomové práce, která typ EFL definuje (Keeling and Inagaki, 2004; opět práce správně citovaná v rukopisu příloženého článku), stejně jako citace práce Kamikawa et al., 2008, PNAS 105:6965-9 („Direct phylogenetic evidence for lateral transfer of elongation factor-like gene“), která dosud jako jediná přináší (domnělé) doklady o konkrétní události HGT v evoluci EFL genů (samí autoři tohoto článku svá dřívější tvrzení nedávno revidovali, viz Kamikawa et al., 2010, Mol Phylogenet Evol *in press*). K mému velkému překvapení je tento druhý článek (Kamikawa et al., 2008) opomenut i v rukopisu příloženého článku Růžička et al., přestože pojednává o samotném jádru problému!

Poslední oddíl úvodu, „Horizontal gene transfer“, svou kvalitou předchází oddíly rozhodně nepřevyšuje. Proč například nejsou uvedeny alespoň nějaké konkrétní příklady genů, v jejichž evoluční historii k HGT došlo? Opět chybí citace na „ty správné“ články - nejsou např. citovány některé zásadní recentní práce o HGT u eukaryot, včetně přehledových článků (Keeling and Palmer, 2008, Nat Rev Genet 9:605-18; Andersson, 2009, Annu Rev Microbiol 63:177-93; Keeling, 2009, Curr Opin Genet Dev 19:613-9), takže to vypadá, že se autor s recentní literaturou o problému, o němž píše, vůbec neseznámil. Autorův popis endosymbiotického původu mitochondrií a plastidů svou vágností působí, jakoby byl převzat z nějaké dvacet let staré práce, např. tvrzení „...plastid, which arose from either a single, but more likely several ancient endosymbioses between a heterotrophic eukaryote and a photosynthetic cyanobacterium“ je ve světle dnešních znalostí stěží obhajitelné. Nalézáme zde i další velice problematické formulace, např.

„This non-sexual movement of genetic information [HGT], can transfer the trait more rapidly than through Darwinian evolution.“

Co tím autor přesně myslel? V jakém smyslu můžeme porovnávat rychlost „přenosu znaků“ přes HGT oproti přenosu přes Darwinovskou evoluci? Co přesně ta „Darwinian evolution“ vlastně je?

Vedle těchto (a dalších) věcných nedostatků „Introduction“ diplomové práce velice pokulhává i po formální stránce. Je zřejmé, že u nerodilého mluvčího se nedá očekávat bezchybné použití

„několik...“, tedy „a few...“), tak největším problémem je zde odkaz na práci „Anderson, 2005“, jež nejen že se MATX a jeho distribucí nezabývá, ale navíc vyšla několik let předtím, než MATX byl vůbec definován (viz Sanchez-Perez et al., 2008). Podobných chybných citací je možno v práci (přesněji osmistránkové části „Introduction“) najít více.

Čtvrtý oddíl úvodu, pojednávající o rodině EF-1 α /EFL, rovněž nepřináší očekávané podrobnosti a obsahuje chyby. Autor si například nebyl schopen pohlídat, aby správně uváděl název samotného EF-1 α , téměř všude namísto toho uvádí „EF1- α “, což jednoduše není správný tvar. Další problém lze nalézt v následující větě:

„In Bacteria, was found that the homologue of EF1- α called EF-Tu is encoded by two nearly identical but unlinked genes - tufA and tufB (Jaskunas et al., 1975).“

Netuším, proč se autor rozhodl citovat zrovna 35 let starou práci, která se navíc týká výhradně bakterie *Escherichia coli*. Od té doby literatura o EF-Tu pochopitelně obrovsky narostla a kdyby se autor pokusil najít nějakou novější přehledovou práci (například článek Margus et al., 2007, BMC Genomics 8:15), tak by zjistil, že jeho tvrzení je velice zavádějící, protože většina bakterií nese jen jeden gen pro EF-Tu (s občasnými duplikacemi jen v některých liniích). Nerozumím také smyslu z literatury převzatého obrázku s mnohočetným přiřazením pěti proteinových sekvencí EF-1 α (Fig. 5), který neukazuje vůbec nic podstatného. Nebylo by názornější přiložit alignment zahrnující sekvence EF-1 α i EFL? Dále vůbec nechápu, jak mohl autor v očekávaném obecném úvodu o EF-1 α /EFL citovat pouhé dvě práce o evoluci EFL a zcela tak opomenout těch několik málo dalších, vesměs klíčových. Chybí tak citace průlomové práce, která typ EFL definuje (Keeling and Inagaki, 2004; opět práce správně citovaná v rukopisu příloženého článku), stejně jako citace práce Kamikawa et al., 2008, PNAS 105:6965-9 („Direct phylogenetic evidence for lateral transfer of elongation factor-like gene“), která dosud jako jediná přináší (domnělé) doklady o konkrétní události HGT v evoluci EFL genů (samí autoři tohoto článku svá dřívější tvrzení nedávno revidovali, viz Kamikawa et al., 2010, Mol Phylogenet Evol *in press*). K mému velkému překvapení je tento druhý článek (Kamikawa et al., 2008) opomenut i v rukopisu příloženého článku Růžička et al., přestože pojednává o samotném jádru problému!

Poslední oddíl úvodu, „Horizontal gene transfer“, svou kvalitou předchozí oddíly rozhodně nepřevyšuje. Proč například nejsou uvedeny alespoň nějaké konkrétní příklady genů, v jejichž evoluční historii k HGT došlo? Opět chybí citace na „ty správné“ články - nejsou např. citovány některé zásadní recentní práce o HGT u eukaryot, včetně přehledových článků (Keeling and Palmer, 2008, Nat Rev Genet 9:605-18; Andersson, 2009, Annu Rev Microbiol 63:177-93; Keeling, 2009, Curr Opin Genet Dev 19:613-9), takže to vypadá, že se autor s recentní literaturou o problému, o němž píše, vůbec neseznámil. Autorův popis endosymbiotického původu mitochondrií a plastidů svou vágností působí, jakoby byl převzat z nějaké dvacet let staré práce, např. tvrzení „...plastid, which arose from either a single, but more likely several ancient endosymbioses between a heterotrophic eukaryote and a photosynthetic cyanobacterium“ je ve světle dnešních znalostí stěží obhajitelné. Nalézáme zde i další velice problematické formulace, např.

„This non-sexual movement of genetic information [HGT], can transfer the trait more rapidly than through Darwinian evolution.“

Co tím autor přesně myslel? V jakém smyslu můžeme porovnávat rychlost „přenosu znaků“ přes HGT oproti přenosu přes Darwinovskou evoluci? Co přesně ta „Darwinian evolution“ vlastně je?

Vedle těchto (a dalších) věcných nedostatků „Introduction“ diplomové práce velice pokulhává i po formální stránce. Je zřejmé, že u nerodilého mluvčího se nedá očekávat bezchybné použití

„contributed equally“. Můžeme se tedy jen domýšlet, které z experimentů v článku popsaných jsou prací Petra Růžičky a které nikoliv. Stejně tak není zřejmé, nakolik se první autor podílel na psaní textu článku. Z výrazně odlišné jazykové úrovně manuskriptu článku a jemu předcházejícího úvodu, kde předpokládám výhradní autorství Petra Růžičky, se dá usuzovat, že text článku byl ostatnímu spoluautorovi přinejmenším zásadním způsobem upraven.

Dalším zarážejícím faktem je, že přiložený rukopis nepředstavuje článek přijatý k uveřejnění, nýbrž článek na základě recenzního řízení zamítnutý časopisem *Molecular Biology and Evolution*. Je asi bezpředmětné, abych zde prováděl vlastní detailní rozbor rukopisu článku. Komentáře dvou anonymních posuzovatelů z recenzního řízení v MBE jsou v diplomové práci přiloženy a mi nezbyvá než se jen připojit k většině výhrad v těchto posudcích uvedených. Je zjevné, že pro správné interpretace provedených pokusů je potřeba doplnit ještě některé kontrolní experimenty. Rovněž považuji za relevantní námitku, že spíše než autory zvolený EFL gen z haptofytu *Isochrysis galbana* by bylo vhodnější pro experimenty využít EFL gen z některého zástupce euglenozoi – přestože fylogeneticky jsou takové geny oba stejně vzdáleny endogennímu EF-1 α , u EFL z euglenozoi se dá předpokládat, že bude obecně lépe adaptován na funkci v kontextu interakcí s dalšími proteiny v buňkách *T. brucei*.

Nyní tedy k části diplomové práce jednoznačně připisatelné Petru Růžičkovi. Tato část („Introduction“) je představována pouze stručným úvodem (osm stran textu plus seznam citací) členěným do pěti oddílů, jejichž tematická souvislost však bez znalosti přiloženého rukopisu článku zůstává čtenáři naprosto nejasná, jelikož chybí jakákoliv úvodní část, která by nastiňovala obrys problému v práci řešeného. Celkově Introduction působí jako narychlo spíchnutý text sloužící jen jako úlitba nutnosti zařadit do diplomové práce nějakou úvodní kapitolu.

První oddíl nazvaný „*Trypanosoma brucei*“ je stručným přehledem biologie kinetoplastidů, zahrnujícím spíše všeobecně známé učebnicové znalosti s důrazem na mitochondriální DNA kinetoplastidů, což je jistě téma zajímavé, ale vzhledem k předmětu diplomové práce prakticky irelevantní. Další, půlstránkový oddíl „Life cycle of *T. brucei*“, ještě více působí jako opsaný kus učebnice, opět bez zřetelné souvislosti s vlastním tématem experimentální části diplomové práce, která jednoduše využívá *T. brucei* jako modelový systém umožňující snadnou genetickou manipulaci, bez ohledu na jeho zvláštní biologii či medicínský význam. Možná by bylo zajímavější v rámci úvodu podat přehled možností, které *T. brucei* jako modelový organismus skýtá, a popsat příslušné techniky (transformace, RNAi atd.)

Se třetím oddílem („Mat/MatX“) se konečně dostáváme k něčemu opravdu relevantnímu, ovšem úroveň zpracování této části je spíše zklamáním. Dozvíme se sice, že existují dva odlišné typy methionin adenosyltransferasy (MAT) se zajímavou fylogenetickou distribucí, autor se ovšem vůbec neobtěžoval rozvést, které konkrétní linie eukaryot mají který typ. Také bych čekal, že pojednání o pro práci stěžejní skupině genů bude pokud možno aktuální, autor však zcela opomenul zásadní článek z loňského listopadu (Kamikawa et al., 2009, *Mol Phylogenet Evol*, 53:565-70) představující dosud nejpodrobnější analýzu evoluce MAT/MATX rodiny. Opomenutí tohoto článku je spodivem, jelikož je citován v rukopisu Růžička et al., takže autor diplomové práce o něm rozhodně ví. Na tomto oddíle je rovněž možné demonstrovat, že autor není dost pečlivý při uvádění citací. MATX je v textu uveden na scénu takto:

„Although MAT is a highly conserved protein, there is evidence, that few eucaryote lineages encode different type of MAT called MATX. Suprisingly the MATX gene is patchily distributed across the eucaryotic tree (Anderson, 2005).“

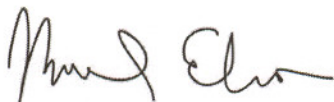
Pomineme-li několik gramatických chyb v těchto dvou větách, jež mohou dokonce měnit správný smysl („few eucaryote lineages“ znamená „málo eukaryotických linií“, zatímco autor chtěl jistě říci

angličtiny, ovšem množství hrubých gramatických chyb (např. věty bez sloves, chybějící členy) a překlepů („itno“, „namaly“, „mitochonrion“, „Curland and Anderson“ namísto „Kurland and Anderson“, atd.) je u tak krátkého textu opravdu přílišné (zejména v době textových editorů s jejich nástroji na snadnou kontrolu pravopisu). Autor je také nekonzistentní ve způsobu psaní anglické varianty jména eukaryot (střídatavě používá „eukaryote“ i „eucaryote“). Naprosto nevhodný je autorem zvolený formát citací – citace článků jsou v textu uváděny jménem autora a rokem vydání, ale seznam referencí není v abecedním pořadí, jak je v takovém případě standardní, nýbrž v pořadí uvedení citace v textu (což se ovšem používá tehdy, jsou-li odkazy v textu číslovány); reference příslušející jednotlivým citacím je tak v seznamu obtížné rychle najít. Formát referencí je navíc nejednotný, někde autor „volume“ časopisu uvádí, jinde ne, někde vypisuje plný název časopisu, někde standardní zkrácenou verzi, někde dokonce neformální zkratku (Trends in Genetics jako „TIG“).

Rovněž mne překvapuje, že práce postrádá obvyklé náležitosti jako poděkování (vedoucímu práce, rodičům atd.), vymezení cílů, nějaký souhrn nebo závěr. Je možné, že úzus, který na PřF JU panuje, je v tomto směru méně striktní než ten na mé *Alma Mater*. V každém případě je ale zásadním pochybením absence vymezení podílu Petra Růžičky na přiloženém manuskriptu článku. Spolu s velkým množstvím věcných i formálních nedostatků zjevně odbyté části Introduction to diplomovou práci diskvalifikuje do té míry, že navrhuji hodnocení „dobře“, s možností úpravy na „velmi dobře“ podle výsledku ústní obhajoby.

Na závěr ještě připojuji několik otázek pro autora diplomové práce:

1. Existují vhodné modelové organismy, na nichž by byly technicky snadno proveditelné pokusy podobné těm popsáným v diplomové práci, ovšem v opačném gardu, tedy že by jako vnášené geny figurovaly MAT a EF-1 α ?
2. Jaké výsledky by autor od takovýchto pokusů očekával?
3. Jaký je jeho osobní názor na význam HGT v evoluci rodin EF-1 α /EFL a MAT/MATX? Týká se případný HGT obou subtypů v každé rodině, nebo vždy jen EFL a MATX?



Mgr. Marek Eliáš, Ph.D.