

## Oponentský posudek na bakalářskou práci:

**Druhý homolog eukaryotického inhibičního peptidu  $F_0F_1$ -ATPázy u *Trypanosomy brucei*: jeho lokalizace a funkce**, kterou vypracovala **Monika Fraňková** pod vedením RNDr. Aleny Zíkové, Ph.D. na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity v Českých Budějovicích.

Předložená bakalářská práce se zabývá studiem domnělého inhibičního peptidu TbIF2 u krevní formy trypanosomy spavičné. Tento gen jen již druhým homologem nalezeným v genomu trypanosomy, ale doposud nebyla potvrzena jeho funkce. Potenciálně by mohl inhibovat hydrolitickou funkci ATPázy, podobně jako je tomu u dříve nalezeného homologu TbIF1, který byl již funkčně charakterizován v laboratoři školitelky Aleny Zíkové. Fakt, že ATPáza, tedy komplex V, funguje v dýchacím řetězci krevních trypanosom obráceně než je tomu u jiných eukaryot, činí studium těchto peptidů velmi lákavým. Úkolem Moniky bylo charakterizovat TbIF2 u trypanosomy a potvrdit či vyvrátit jeho funkci coby hydrolázy ATP v mitochondrii.

*inhibitoru*

Práce je psána česky, místy se objevují překlepy, nejasné formulace či špatný slovosled, což je z velké části dáno překladem z angličtiny. Tyto drobnosti lze odpustit s přihlédnutím k tomu, že autorka se bude v budoucnu vyjadřovat, když už ne hezky česky, tak alespoň hezky anglicky, ideálně v časopisech s vysokým impakt faktorem.

Co je myslím podstatnější je rozložení práce, které mi bohužel přišlo nevyvážené. Práce má rozsah 30-ti stran, je rozdělena do šesti částí zahrnujících Úvod, Cíle, Metodiku, Výsledky, Diskusi a Použitou literaturu. Například kapitola Metody je příliš obsáhlá a zahrnuje zhruba 35% z celé práce, naproti tomu diskuse představuje necelou stránku. K jednotlivým částem se ale podrobněji vyjádřím níže.

V části Úvod autorka představuje svůj modelový organismus, jeho biologii se zaměřením na mitochondrii a ATP syntázu. Tato část je velmi pěkně a srozumitelně napsána, i když si neodpustím svoje malé *ale*, a sice, že by autorka mohla problematiku pojmout více zešíroka a neomezovat se pouze na kvasinkový a bovinní inhibiční peptid. ATPáza a její inhibiční faktory jsou u eukaryot studovány již řadu let a lze najít práce popisující tento peptid u *Caenorhabditis elegans*, *Arabidopsis thaliana* apod. Nemluvě o tom, že nejsou vůbec uvedeni blízcí příbuzní z řádu Kinetoplastida a jedinou představu o struktuře proteinu si čtenář udělá z obr. 4, který srovnává aminokyselinovou sekvenci TbIF2 s bovinním a kvasinkovým homologem. K obrázku není žádný další komentář, např. jak moc jsou si sekvence podobné, zdali obsahují nějaké domény či importní signál apod. Jaká je predikce mitochondriální lokalizace TbIF1 a TbIF2?

Zde bych autorku požádala o mnohem širší alignment zahrnující oba homology a jejich identifikační čísla z databáze, která v práci chybí. Myslím, že podrobná fylogenetická analýza by pomohla zodpovědět otázky, které si autorka v práci klade. Nelpím na tom, aby Monika udělala „stromček“ .....ale může ☺

Jak už jsem zmiňovala část metodika je velmi podrobná, nicméně obsahuje hodně balastu. Jednotlivé sekce jsou nelogicky členěné a nepřehledné viz sekce 3.5. a její podkapitoly. Kdyby autorka uvedla protokoly v bodech byly by srozumitelnější a vyhnula by se tím nepěkné češtině.  
Může autorka uvést jak byla značená její sekundární protilátka a jaký filtr použila při mikroskopování?

V části Výsledky Monika prokázala, že se již plně orientuje v základních molekulárně biologických postupech a úspěšně splnila cíle, které si v bakalářské práci vytyčila. Jedná se nesporně o nejsilnější stránku její práce a negativní výstupy nijak nesnižují její význam. Hned dvěma postupy prokázala, že TbIF2 na rozdíl od TbIF1 je lokalizován v cytosolu a neinhibuje růst krevní formy trypanosomy.

Může autorka doplnit který den po indukci byly buňky studovány pomocí IFA a western blotu?

Myslí si autorka, že cytosolická lokalizace zapříčinila to, že enzym neinhibuje růst trypanosomy?

Existují u jiných eukaryot inhibiční faktory, které jsou lokalizovány v cytosolu či v jiné než mitochondriální membráně?

Diskuse je velice stručná a omezuje se pouze na výsledky dosažené v rámci bakalářské práce či v rámci připravovaného manuskriptu na TbIF1.

V závěru práce autorka uvádí cituji: "Z těchto výsledků vyplývá, že TbIF2 nemá funkční podobnost s TbIF1. Role tohoto proteinu je zatím neznámá. K objasnění jeho biologické role v buňce parazita budou potřeba další studie."

Jaké studie má autorka na mysli?

Má smysl studovat IF2 i v hmyzí formě trypanosomy?

O inhibičních peptidu TbIF1 se ví, že jeho funkce je závislá na pH. Jaký je tedy rozdíl v pH mezi cytosolem a jednotlivými kompartmenty mitochondrie? V jakém rozsahu pH je enzym stále aktivní? Platí totéž i pro TbIF2?

I přes zmiňované nedostatky, které našla má kritická mysl je můj celkový dojem z předložené bakalářské práce *velmi dobrý* a takové navrhuji i ohodnocení.

18. května 2012



RNDr. Eva Horáková Ph.D.  
[horakova@paru.cas.cz](mailto:horakova@paru.cas.cz)  
tel: +420-38-7775472