

## OPONENTSKÝ POSUDOK NA BAKALÁRSKU PRÁCU

### **„Lokalizace proteinových komponent ribozomů a jejich prekurzorů v mitochondriích parazitického prvoka *Trypanosma brucei*“**

Autor: Julie Dedková  
Školitel: Mgr. Ondřej Gahura, Ph.D.  
Školitel-specialista: MSc. Jonathan Wong  
Oponent: Mgr. Eva Hegedúsová, Ph.D.

Predložená bakalárska práca Julie Dedkovej je zameraná na lokalizáciu proteínových komponentov ribozomov a ich prekurzorov v mitochondriách *T. brucei*. Hlavným cieľom autorky bolo pripraviť geneticky modifikované bunkové línie, ktoré exprimujú zvolené proteíny a pomocou tagovaných proteínov zistiť ich lokalizáciu v mitochondriách. Získané výsledky by mohli napovídať v ktorej fáze biogenézy je malá podjednotka mitoribozómu asociovaná s membránou a v akej fáze sa nachádza voľne v matrix mitochondrií. Bakalárska práca má rozsah 41 strán a je koncipovaná štandardným spôsobom. Autorka v úvode stručne popisuje základné znalosti o *T. brucei*, a v ďalších častiach sa zamerá na mitochondrie a mitochondriálne ribozómy a ich biogenézu. Ciele práce sú formulované jasne a stručne, hoci v tejto časti práce by som očakávala zoznam vybraných proteínov a bunkových línií pre uľahčenie orientácie cez nasledujúce kapitoly. Kapitola „Materiál a metódy“ sú vypracované detailne, cením si jej podrobný popis, na základe čoho by sa mohol experiment ľahko reprodukovat'. Autorka počas jej práce prechádzala s mnohými experimentálnymi technikami, od PCR a analýzy DNA cez manipuláciu s *T. brucei* až po izoláciu mitochondrií, submitochondriálne frakcionácie a western blotu na detekciu špecifických proteínov. Výsledky tvoria najväčšiu časť práce, kde získané výsledky jednotlivých experimentov sú popísané v logickom slede a zdokumentované obrázkami. Na konci jednotlivých kapitôl by som uvítala krátke zhrnutie výsledkov. Autorke sa podarilo čiastočne dosiahnuť vytíčené ciele. Úspešne pripravila modifikované bunkové línie, pomocou ktorých bola schopná lokalizovať študované proteíny. Keďže hypotézu sa nepodarilo experimentálne potvrdiť, autorka v poslednej časti práce diskutuje a navrhuje možné riešenie problému. Verím, že čas strávený v laboratóriu a získané technické zručnosti, prinesú autorke benefit pre jej ďalší štúdium.

K práci mám nasledovné pripomienky resp. otázky:

- Zoznam skratiek by bolo vhodné zjednotiť, niekedy autorka uvádza len v češtine, niekedy pridáva aj anglickú verziu, inokedy je to mix češtiny a angličtiny. Táto stránka ma niekoľko preklepov (napr. mesengerová, fosforilace, succinyl-koenzym A, kořenová peroxidáza).
- Pokiaľ uvádzate na začiatku práce zoznam skratiek, tak v nasledujúcich častiach už nie je potrebné znovu rozpísať jednotlivé skratky, napr. str 9. *polymerázové řetězové reakce (polymerase chain reaction, PCR); nepřekládané oblasti (untranslated region, UTR)*.
- V kapitole Výsledky uvítala by som detailnejší popis obrázkov.
- Názvy jednotlivých podkapitôl v časti Výsledky sú nevhodné formulované. Znejú skôr ako cieľ a nie ako výsledok. Napr. *Vytvorení geneticky ..., Overení exprese...*
- Str.18, obr. 4 – DNA marker je uvedený vedľa gélu v opačnom poradí. V popise tohto obrázku *...sloužící jako fragment pro translaci T. brucei...* predpokladám malo to byť „pro transfekcií“
- Na str. 19 uvádzate pripravené bunkové línie. Chýba mi v zozname línia p-Sm-Ox mt-SAF24-V5. Ďalej pre lepšiu orientáciu by som uvítala zoznam všetkých bunkových línií s ktorými autorka pracovala (nie len tie, ktoré sama pripravila).
- Na základe čoho ste si zvolili študované proteíny, mt-SAF16, mt-SAF24 a mS64? Je vzťah medzi assembly faktormi mt-SAF16 a mt-SAF24? Ak áno, aký?
- Akou inou technikou by ste mohli určiť či študovaný proteín je asociovaný s membránou alebo sa nachádza voľne v matrix?
- Píšete v úvode, že malá mitoribozomálna podjednotka by mala byť viazaná k vnútornej mitochondriálnej membráne len v fáze assemblosomu a pri ďalších krokoch maturácie malo byť uvoľnené v matrix. Vedeli by ste špekulovať prečo počas maturácie by sa mal meniť lokalizácia intermediátov? A aká by mohla byť výhoda tejto zmeny?
- Väčšina assembly faktorov, ktoré ste testovali sa nachádzali v membránovej frakcii a nie v matrix, ako ste očakávali. Uvažovali ste na tom, že nie len assemblosom je viazaný k membráne ale aj ďalšie intermediáty? Alebo myslíte si, že ste sa narazili len na technický problém?

Na záver môžem konštatovať, že predložená bakalárska práca spĺňa požiadavky kladené na záverečné práce v bakalárskom stupni štúdia a preto navrhujem prácu Julie Dedkovej prijať k obhajobe.