



# BIOLOGY CENTRE CAS

## Institute of Parasitology

address: Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

IBAN – CZ24 0800 0000 0000 0606 3942 | SWIFT CODE – GIBACZPX | VAT No.: CZ60077344

phone: +420 387 775 403 | fax: +420 385 310 388 | www.paru.cas.cz | e-mail: paru@paru.cas.cz

May 15<sup>th</sup>, 2023

České Budějovice, Czech Republic

### Oponentský posudek

#### Diplomová práce: Vnitrodruhová variabilita *Cryptosporidium muris*

Oponentský posudek na diplomovou práci Jany Tinavské jsem vypracoval s velkým potěšením. Práce je napsaná přehledně a jasně a její text je velmi dobře srozumitelný. Práce má celkový rozsah 84 stran a odkazuje na zhruba 170 vědeckých studií. V textu jsem nenašel závažné faktické či formální chyby, a jen zanedbatelné množství překlepů.

Práce se, jak její název napovídá, zabývá vnitrodruhovou variabilitou jednobuněčných organismů rodu *Cryptosporidium*. Kryptosporidie patří do velké skupiny Apicomplexa, zahrnující převážně obligátní vnitrobuněčné parazity. Diplomová práce se specificky zabývá druhem *Cryptosporidium muris*, což je žaludek infikující druh, který byl doposud považován za specifický pro hlodavce. Jana Tinavská studovala izolát získaný ze stabilní infekce kočky domácí, u kterého detailně charakterizovala jeho druhovou specifitu, morfologii a fylogenetickou pozici. Závěrem diplomové práce je zjištění, že kočičí izolát *C. muris* se geneticky a morfologicky neliší od jiných izolátů *C. muris*, přestože vykazuje jasně rozdílnou životní strategii.

Autorka ve své práci využila značné množství metod – světelnou mikroskopii s řadou specifických barvení, elektronovou mikroskopii, sekvenování a molekulárně fylogenetickou analýzu, i infekční experimenty. Zde je nutné podotknout, že práce s prvky obecně (a s novými izoláty obzvláště), je značně složitá a nejistá, a diplomovou práci tak lze již z tohoto hlediska považovat za velice úspěšnou. Autorka také připravila vysoce kvalitní a čistou DNA pro budoucí sekvenaci genomu studovaného izolátu. V samotném textu práce se autorka nejdříve zabývá morfologií oocyst a fylogenetickou analýzou čtyř genů. Poté se věnuje analýze průběhu a lokalizaci infekce, i vývojovému cyklu parazita. Diskuze výsledků je dobře a přehledně napsaná a precizně shrnuje výsledky provedeného výzkumu.

Předložená diplomová práce je nesporným vědeckým přínosem pro naši znalost parazitů z rodu *Cryptosporidium* a jeho diverzitu. Autorka tak dle mého názoru zcela splnila požadavky kladené na diplomovou práci na Přírodovědecké fakultě Jihočeské univerzity, a proto ji s potěšením doporučuji k obhajobě s hodnocením výborná.

Mgr. Martin Kolísko, Ph.D.

Laboratoř genomiky a diverzity prvků

Parazitologický ústav, Biologické Centrum, CAS

Branišovská 31, České Budějovice, 370

05 Czech Republic kolisko@paru.cas.cz

+420387775478

Otázky a komentáře pro autorku:

1. Na straně 12 autorka diskutuje pozici kryptosporidií v rámci skupiny Apicomplexa a uvádí hypotetickou příbuznost kryptosporidií gregarinám. V posledních cca 4 letech bylo publikováno několik fylogenomických analýz zahrnujících gregariny. Potvrdili či naopak spíše vyvrátily tyto práce validitu skupinu Cryptogregarina?
2. Na straně 48, obrázek 5 je strom zkonstruovaný na základě genu pro HSP70. Sekvence z *C. proliferans* a *C. muris* Kawabati se zdají být identické. není možné, že se jedná se o záměnu/špatné určení druhů?
3. Autorka používá pro svou fylogenetickou analýzu několik protein kódujících genů. V jejím případě správně používá sekvence DNA. Zajímalo by mě, zda tyto sekvence alignovala na základě proteinových sekvencí, které pak zpětně překládala do DNA, či přímo alignovala sekvence DNA? A proč zvolila právě tento postup? V jakém případě by bylo vhodnější použít sekvence aminokyselin pro rekonstrukci fylogeneze?
4. Jaké další kroky by autorka podnikla, měla-li by pokračovat v tomto výzkumu?