
Review of the PhD thesis entitled
„Biogenesis of Photosystem II in the Model Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 –
The Role of Selected Auxiliary Protein Factors and Subcellular Localisation”
submitted by Jana Knoppová
(Supervisors: Prof. Josef Komenda)

The thesis deals with the role of auxiliary protein factors in the biogenesis of the cyanobacterial photosystem II (PSII). In particular, the thesis reveals the binding of Psb27 to CP43 complex, the subcellular localization of the PSII assembly and provides evidence for the involvement of CyanoP in the early steps of the assembly process. Furthermore, it investigates how chlorophyll could be delivered to PSII during assembly and explores the importance of the Ycf39-Hlip pigment–protein complex in chlorophyll delivery during the initial stages of the assembly.

The subjects of the thesis are of great interest in the field of photosynthesis. The thesis is based on 3 already published and one submitted publications, in two of them the Candidate is the first author. Since most of the results are published indicating that they were already reviewed by international juries and found to be important and up to date. The articles represented in the Results chapter of the thesis. The first chapter of the thesis is a short introduction that gives a basic overview about the concerned themes, followed by more detailed overview providing a good background for the results chapter indicating the Candidate has satisfactory knowledge of the field. The 3rd chapter summarizes the main findings and the 5th Conclusions chapter also highlights the main results and raises some further perspectives. The results and the conclusions represented in the articles of the 4th chapter are well argued. The methods - molecular biological, biochemical and biophysical techniques - applied by the Candidate are up-to-date and relevant. The quality of English and the general presentation is very good.

In the following, I give my list of critical remarks and questions.

There are some repetitions of words, phrases and ideas. There are only few small mistakes in the text e.g. page 2: factors, factors – factors; page 4: the organic – organic; with the oxygen – with oxygen; page 18: chaperon-like – chaperone-like; page 20: wild type plants - wild-type plants.

Chapter 1: On figure 1 it would be nice to indicate the sides of the membrane because further in the text several times mentioned the luminal side.

Chapter 2.1: I suggest not to write “first” in the sentence “first three-dimensional structures” since two publications are cited with 3 years difference.

In the figure legend of figure 3 the 12 kDa protein is designated as PsbV while that is correctly PsbU. Although, they are well known, I think it would be useful to explain what is D1, D2, CP47 and CP43 in the figure legend since that is the first time they are shown in a figure.

Chapter 2.2: It is enough to state one of them : still unclear or is under discussion.

Chapter 2.3: It would be good, but not necessary; to add one sentence about how many FtsH were identified in *Synechocystis*.

Chapter 2.4: Figure 4 and 5: Not everything is mentioned in the list of designation that is shown in the figures (e. g.: E, F, I).

Chapter 2.5.3: Note: The Ycf39 (*sll1218*) is not a hypothetical protein anymore since it was identified by MS.

Chapter 3: This Summary chapter includes the Aims of the thesis. I think it would be better to put it as a separate chapter to highlight it more followed by the Summary. Perhaps the Summary could be combined with the Conclusion.

It is not clear from the text that the results described in the Summary are own results. This is the case also in Chapter 5 Conclusion. (Even the Candidate refers her first author publication as “Knoppova et al identified”.) I suggest the use of first-person plural.

Chapter 4: Supplemental data are missing for the easy understanding. Supplemental data and figures should be incorporated in the subchapters, especially for 4.4 since that are even online not available, yet. I think the repetition of the abstracts is unnecessary before the articles.

Chapter 4.4: It would be nice to have more information about the role of D1 assembly factor Ycf48. (Without the supplementary data is hard to follow the mutant construction.)

Figure 9.: It might be better to mark the “synthesized D2” and D1” into the symbols and not under the membrane covering the other designated proteins. The red line is hardly visible.

The “Acknowledgement” contains the Author contributions.

Questions:

How many times were the experiments repeated? The question raised since the 1D, 2D Sypro and the iD1/D1 part of the 2D blots are exactly the same in Chapter 4.2 Figure 3A and Chapter 4.4 Figure 1.

What could be the reason of the copurification of phycobilisome fragments with CyanoP-FLAG from CyanoP-FLAG / Δ CP47 and CyanoP-FLAG / Δ D1 mutant strains (that was not indicated in the case of Flag-Ycf39)?

What does mean the extraordinary rapid turnover of the D1 protein? What is the opinion of the Candidate is there any correlation between the need of rapid D1 turnover and that some chlorophyll biosynthesis related proteins are seems to turn over as rapidly as D1?

How could be studied the putative enzymatic dehydrogenase function of Ycf39?

On the basis of the presented results, that published in international journals of good standards, and the nicely written thesis, I suggest to the Doctoral Committee the admission of the dissertation to public defence and in the case of succesfull defence awarding of the PhD degree to Jana Knoppová.

Szeged, 05.06.2016

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Bettina Ughy'.

Bettina Ughy PhD

Biological Research Centre, HAS

H-6726 Szeged, temesvari krt. 62.

Hungary

Posudek oponenta na disertační práci

Název práce: Biogenesis of Photosystem II in the Model Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 – The Role of Selected Auxiliary Protein Factors and Subcellular Localisation

Autor práce: RNDr. Jana Knoppová

Disertační práce RNDr. Jany Knoppové je věnována především studiu skládání fotosystému II u modelové sinice *Synechocystis*. Detailně se věnuje především roli a lokalizaci pomocných proteinů Psb27, Ycf39 a CyanoP. Získané výsledky prezentované v podkladových časopiseckých publikacích přinášejí řadu velmi zásadních a mnohdy překvapivých zjištění o skládání fotosystému II u sinic, s možnými širšími přesahy i do říše rostlin.

Práce byla podána formou komentovaného souboru publikací. Doprovodný text je psaný hezkou čtivou angličtinou. Výsledky získané v rámci řešení disertační práce jsou zde zasazeny do širších souvislostí a úvodní text lze považovat za velmi povedený přehledový článek. Po formální stránce je práce zpracována velmi pečlivě a kromě několika (možná) chybějících čárek v souvětích jsem nenašel žádné překlepy ani jiné chyby.

Cíle práce – osvětlit roli a lokalizaci tří pomocných proteinů fotosystému II – nejsou uvedeny samostatně, ale jen jako úvodní věta kapitoly Introduction. Cíle odpovídají názvu a obsahu práce a vzhledem k získaným výsledkům je lze považovat za splněné. K prokazování pracovních hypotéz RNDr. Jana Knoppová využívala široké spektrum v laboratoři zavedených technik zahrnujících především biochemické analýzy proteinů a proteinových komplexů, tvorbu mutantních linií sinic a fyziologické experimenty s těmito liniemi. Z publikací, jež jsou součástí práce, plyne, že kromě vlastního velkého nasazení RNDr. Jany Knoppové, bylo vysoké kvality výstupů dosaženo díky tomu, že pracuje ve výborně fungujícím týmu, jehož vědomostní a metodické zázemí je na světové špičce. Z vyjádření školitele je patrné, že kromě vlastní experimentální práce se RNDr. Jana Knoppová podílela i na sepisování publikací. O jejich formulačních schopnostech svědčí i text předložené práce.

Vytýčené cíle práce byly splněny a získané výsledky se staly podkladem pro vytvoření čtyř článků (tři již vyšlé, jeden odeslaný do recenzního řízení) ve vysoce prestižních rostlinně orientovaných časopisech (dle IF jsou všechny časopisy v prvním decilu v kategorii Plant Sciences), což velmi vypovídá o kvalitě získaných výsledků. Autorské kolektivy jednotlivých článků jsou relativně malé (5-9 osob) a RNDr. Knoppová je u dvou publikací uvedena jako první autorka, jednou druhá a jednou třetí. I dle vyjádření školitele je celkový podíl RNDr. Knoppové na publikacích poměrně významný.

Závěrem konstatuji, že disertační práce RNDr. Jany Knoppové je velmi kvalitní, a proto ji s radostí doporučuji k obhajobě a doporučuji, aby byl RNDr. Janě Knoppové udělen vědecký titul Ph.D.



Lukáš Fischer

V Praze 6.6. 2016