



# BIOLOGICKÉ CENTRUM AV ČR, v. v. i.

## Parazitologický ústav

adresa: Branišovská 1160/31, 370 05 České Budějovice

telefon: +420 387 775 403

fax: +420 385 310 388

IČ: 60077344 | DIČ: CZ60077344

číslo účtu: 5527231/0710, ČNB České Budějovice

www.paru.cas.cz | e-mail: paru@paru.cas.cz

### Oponentný posudek na diplomovou práci pana Marka Valta

Diplomová práce s názvem „Morphological, ultrastructural, and transcriptomic characterization of the newly discovered protist lineage SUM-K“ předkládá velmi zajímavou morfolgickou, ultrastrukturní a fylogenetickou (fylogenomickou) analýzu nového organismu SUM-K, který se zdá být novou eukaryotickou linií. Téma diplomové práce je velmi důležité, práce je, až na pár drobností, skvěle zpracovaná, psaná výbornou angličtinou.

Diplomová práce rozebírá ultrastrukturu a morfologii nového prvoka, jeho fylogenetickou pozici v rámci eukaryotického tree of life, popisuje a diskutuje jeho mitochondriální genom a energetický metabolismus. Celá práce, podle mého názoru, svou úrovní daleko přesahuje běžné magisterské práce. Až na pár drobností zmíněných níže, jde o vynikající příspěvek k evoluci eukaryot a nemám absolutně žádné pochybnosti o tom, že by měla být připsána k obhajobě.

Přesto si musíme vyjasnit pár věcí. Není totiž zcela jasné, které části práce dělal sám diplomant a které jeho spolupracovníci. V práci jsem našel zmínku o tom, že fylogenomickou analýzu provedl Matthew Brown. Nejsem si zcela jist, jak by taková věc měla být uchopena a neznám zvyklosti Přírodovědecké fakulty UK, ale zdá se mi, že by v takovém případě neměla být fylogenomika součástí kapitoly 2. Materials and methods, a příspěvek Dr. Browna by měl být uveden v seznamu literatury jako nepublikovaná data, případně by měla být přílohou k diplomové práci. Předpokládám, že interpretace analýzy je již autorská. Podobně, většina práce (asi protože vypadá jako rukopis publikace) je psaná v první osobě množného čísla. Mohu tedy předpokládat, že spolupracovníci se podíleli i na jiných částech práce (např. fixace a příprava vzorků pro TEM a pod.). Pokud tomu tak bylo, mělo by to být v práci uvedeno (pokud mi to neuniklo, což nemůžu vyloučit). Prosím tedy autora, aby během obhajoby jasně a přesně specifikoval, co dělal on a co ostatní.

### Ostatní připomínky a otázky:

1. V abstraktu autor uvádí: „Tento protist je rutinně kultivovaný za anoxických a mikrooxických podmínek, ale transkriptomické data ukázali, že okrem dráh typických pre aeróbov obsahuje aj bohatú sadu enzýmů anaeróbného metabolismu, ako je pyruvát: ferredoxín oxidoreduktáza (PFO), alternatívna oxidáza (AOX) alebo pyruvát:format lyáza (PFL).“ Tato věta mi nepřijde logicky správně. Pokud je



organismus pěstován bez přístupu kyslíku, není přítomnost anaerobních enzymů nikterak překvapivá. Naopak, nečekaná je přítomnost drah aerobního metabolismu, komplexů dýchacího řetězce a hlavně kompletní ATP syntázy.

2. Autor na straně 34 říká: „It needs to be noted that secA was not found in our transcriptomic data. This is possibly due to a known artefact of mRNA sequencing with the poly-A selection method of transcript enrichment, where mRNAs that are non-polyadenylated (absent of a poly-A tail at their 3' ends), are not captured in the final library.“ Našel jste v transcriptomu nějaké jiné mitochondriální transkripty? Pokud ne, nezkoušel jste Northern hybridizaci na izolované RNA s DNA sondou?
3. Autor tvrdí, že našel dvě core podjednotky NADH dehydrogenázy (komplex I), letmý pohled do mt genomu ale ukáže, že tam žádné nejsou. Až na konci se dozvím, že se mluví o transkriptomu. Možná by bylo dobré říct hned na začátku odstavce, s jakými daty autor zrovna pracuje. Podobně matucí je popis komplexu II. Pokud totiž autor mluví o mitochondrii („Same situation is proposed for mitochondrion of SUM-K as we were able to annotate two main subunits and assembly factor 1“), není jednoznačně řečeno, že jde o mitochondriální genom a nikoliv proteom, protože v proteomu jsou jak jaderně kódované proteiny, tak ty kódované v mitochondrii. Vědecký text by měl být jednoznačný a neměl by, v ideálním případě, nutit čtenáře lovit si informace v datech.
4. Bylo by také přínosné, označit v tabulce 2, které komponenty dýchacího řetězce jsou jaderně a které mitochondriálně kódované, aby si to čtenář opět nemusel pracně vyhledávat. Asi by taky nebylo od věci uvést alternativní NADH dehydrogenázu, o které autor tvrdí, že jí (patrně v transkriptomu) našel, v tabulce 2.
5. Na str. 31 autor říká, že „As expected, all photosynthetic eukaryotes formed solid clade.“ (Míněno u stromu ze secA sekvencí) V obrázku ale vidím dva klastry fotosyntetických eukaryot, které jsou zjevně různého původu.
6. Osobně jsem očekával více odvahy v interpretaci fylogenetické pozice SUM-K. Takže doufám, že se pan Valt trochu odváže při obhajobě, ať se máme o čem pohádat.
7. Jak si autor vysvětluje přítomnost dýchacího řetězce a zároveň neschopnost prvoka žít v kyslíkatém prostředí?
8. Autor na konci kapitoly o energetickém metabolismu tvrdí: „Last aspect I cannot omit while describing the energy metabolism of SUM-K is presence of alternative NAD(P)H dehydrogenase (NDA) and alternative oxidase (AOX), which provide auxiliary pathway of membrane potential generation to CI,



reportedly with comparable efficiency.“ Mám si to vysvětlit tak, že podle autora, pumpuje NDH2 protony to mezimembránového prostoru mitochondrie a generuje membránový potenciál?

9. Jak si autor vysvětluje fakt, že žádná podjednotka NADH dehydrogenázy není kódovaná v mitochondriálním genomu?
10. Našel autor v genomových datech virové sekvence?
11. V anglickém abstraktu píše autor název skupiny „Heliozoans“ začínající velkým písmenem, což je v angličtině u common name chyba. Podobně, na str 34, „Hemimastigophoreans“.
12. V seznamu literatury chybí citace Hehenberger et al., 2017.
13. Editační drobnosti, v textu je pár překlepů a chyb v úpravě textu: Chybí kurzíva u názvu druhu (non-photosynthetic *Mastigamoeba invertens* (str. 20), zdvojená citace (Pyrih et al., 2021) na str 31, zbytečná kombinace common a scientific names v obrázcích (obr. 5, 6; překlepy, např. v obrázku 8: non-photosynthetic „eukryots“, „Archea“; chybějící kurzíva u druhových jmen v některých obrázcích apod.

Závěrem bych jen uvedl, že předložená diplomová práce bohatě splňuje požadavky na podobný typ kvalifikačních prací. Pokud diplomant uspokojivě vysvětlí výše uvedené nejasnosti a odpoví na mé otázky, hodnotím jí známkou „výborně“.

V Českých Budějovicích dne 24. 8. 2021

Miroslav Oborník  
Biologické centrum AVČR  
Parazitologický ústav  
České Budějovice