IMG Ústav molekulární genetiky AV ČR, v. v. i.

Doc. David Staněk, Ph.D.
Vedouci
Oddělení biologie RNA

Oponentský posudek dizertační práce Mgr. Jitky Jirát Matějčkové

Jitka Jirát Matějčková se ve své dizertační práci s názvem " Bakteriální RNA polymeráza a molekuly ovlivňující její funkci " zaměřila na studium regulace bakteriální RNA polymerázy (RNAP) u *Bacillus subtilis* a *Mycobacterium smegmatis*. Regulace transkripce je klíčová pro adekvátní reakci bakterií na změny vnitřního i vnějšího prostředí a pro přechody mezi exponenciálními a stacionárními fázemi životního cyklu. Nicméně molekulární mechanismy této regulace nejsou zdaleka popsány a zůstává stále mnoho nejasností. Předložená dizertace tak řeší velmi aktuální vědecká témata.

Dizertační práce je tematicky homogenní a všechny její části se zabývají regulací RNAP. Po velmi dobře napsaném a čtivém literárním přehledu a popisu použitých přístrojů a technik navazuje kapitola popisující dosažené výsledky. V první části Jitka Jirát Matějčková studovala proteinové faktory δ, YdeB, GreA a jejich vliv na citlivost RNAP *B. subtilis* na koncentraci iniciačního nukleotidu. Výsledky velmi silně ukazují na roli δ faktoru při regulaci citlivosti RNAP na koncentraci iniciačního nukleotidu. U ostatních studovaných faktorů žádný podstatný vliv na regulaci RNAP nebyl pozorován. Tyto výsledky jsou součástí publikaci Rabatinová et al. (2013), *J. Bacteriology*. V druhé části autorka zkoumá vliv nově objevené nekódující RNA u *M. smegmatis* nazvané Ms1 na regulaci RNAP. Společně s Dr. Jarmilou Hnilicovou autorka popsala expresi Ms1 během životního cyklu *M. smegmatis*, interakci Ms1 s RNAP a vliv Ms1 na transkripční aktivitu RNAP. Jedná se o průlomový objev a charakterizaci nové regulační nekódující RNA v *M. smegmatis*. Tyto výsledky byly publikovány v Hnilicová, Jirát Matějčková et al. (2014), *Nuc. Acids Res.*, kde první dvě autorky sdílí prvoautorství. Dojem z velmi pěkných výsledků trochu kazí fakt, že některé obrázky prezentované v dizertaci byly provedeny spoluautorkami uvedených publikací, jak je uvedeno na str. 98. Za výsledkovou částí následuje diskuze, která je nejslabší kapitolou celé dizertace a prakticky se v ní opakují výsledky. Očekával bych zasazení výsledků, zvláště pak o Ms1, do celkové regulace metabolizmu bakterií a širší diskuzi o vlivu různých faktorů na regulaci RNAP.

Nicméně i přes uvedené výtky předložená práce **splňuje podmínky kladené na disertační práci a doporučuji ji k obhájení.**

Vídeňská 1083, 142 20 Praha | Tel.: 296 443 118 | Fax: 224 310 955 | E-mail: stanek@img.cas.cz | www.img.cas.cz

K předložené dizertační práci mám následující dotazy:

1. Na Obr. 26 se proložená křivka u Δδ RNAP kmene výrazně odchyluje od experimentálních dat. Zkoušeli jste ji prokládat dvouparametrovou funkcí? Pokud by dvouparametrická funkce lépe vystihla experimentální data, změnila by se interpretace tohoto výsledku?

2. Na Obr. 36 se zdá, že Ms1 vytváří kromě hlavního komplexu (frakce 11-14) i menší minoritní komplex (frakce 6). Zkoumali jste detailněji tento komplex a máte pro jeho přítomnost nějaké vysvětlení?

3. Poslední otázka se týká Obr. 43. Jsou nějaké změny v chování *M. smegmatis* ve stacionární fázi respektive při přechodu ze stacionární do exponenciální fáze po naprodukci σ^? A jen na okraj, může autorka vysvětlit, jak mínila větu na str. 82, že 8-násobné snížení interakce Ms1-RNAP po nadprodukci σ^ může být částečně vysvětleno zvýšenou (2x) expresí Ms1?

David Staněk

V Praze dne 25.2.2019