

Posudek na disertační práci Mgr Volhy Ramaniuk na téma:
**Factors interacting with bacterial RNA polymerase
and their effect on the regulation of transcription initiation.**

Předložená disertační práce je sepsána na základě pěti prací, kterých je autorka spoluautorem, z nichž na dvou je uvedena jako autor první.

Práce je ve formě plné verze, takže obsahuje i popis experimentálních postupů a výsledků. Je rozdělena do příslušných kapitol, které detailně popisují výsledky publikované v jednotlivých pracích, které jsou výlučně autorčiny. Kapitola 3 týkající se transkripčního faktoru σ^1 je doplněna zjevně i o nepublikované výsledky. Tyto kapitoly pak předchází literární úvod o problematice iniciace transkripce.

Práce je psaná v angličtině.

Formální úroveň práce je nadprůměrná, práce je rozsáhlá a sepsána pečlivě, i když obsahuje několik překlepů a stylizačních chyb.

Úvod do problematiky je relevantní, detailně popisuje molekulární podstatu iniciace transkripce, její kinetiku, strukturu RNAP a sigma faktorů a interakci sigma faktorů s RNAP a promotorovou částí DNA. Jednotlivé podkapitoly logicky navazují, text by mohl sloužit jako učebnice pro studenty, nicméně s některými tvrzeními nemohu úplně souhlasit. Např.:

Str. 21 předposlední odstavec: „Depending on the conditions, appropriate σ factors reversibly associate with RNAP.“

Jaký je mechanismus, který spojuje podmínky a příslušný sigma faktor, tak aby pouze za těchto podmínek jeden sigma faktor asocioval s RNAP?

Dále v kapitole 2.3. je trochu nepřehledné označování sigma faktorů a jejich domén.

Např.: Str. 25, 3. A 4. odstavec: Factor σ (σ 4.2) specifically recognizes and binds the **-35** hexanucleotide sequence“... a „ σ 2 recognizes and binds the **-10** element“...

Práce obsahuje i výčet experimentálních přístupů, nerozlišuje však, v které experimentální části byla příslušná metoda použita. Obsah experimentální části pak koresponduje s příslušnými publikacemi a práce je v této části rozdělena do pěti kapitol. Výsledky jsou diskutovány jednotlivě a obsah diskuze koresponduje s publikovanou verzí. Charakter prací ale asi neumožňuje jednotnou diskuzi, protože přesto, že jsou všechny práce na téma regulace iniciace transkripce a interakce transkripčních faktorů, popisují rozdílné fyziologické podmínky, mechanismy a případně i studované mikroorganismy.

Experimentální část je obsáhlá a autorka se podílela na unikátních výsledcích v příslušné problematice regulace iniciace transkripce na modelové gram pozitivní bakterii *Bacillus subtilis* a spolupodílela se i na studiu u *Mycobacterium smegmatis*.

K práci mám tyto otázky:

1. Na str. 17 v úvodu máte tvrzení: ...“All steps of transcription can be regulated, the rate-limiting step determining the frequency of transcription initiation are sequence and structure of the promoter DNA.“ Je to bez doplnění pravdivý výrok? Platí pro různé fyziologické podmínky? Např. dostatek a nedostatek živin? Nebo fyziologické a stresové podmínky?
2. Z diskuze k 1. Části práce vyplývá, že studované promotory byly vesměs citlivé k hladině iNTP, z práce ale nevyplývá, zda testované promotory obsahují přirozený iNTP, který je podle tabulky 5 u studovaných promotorů různý (buď ATP, nebo GTP). Jaké jsou hladiny těchto dvou NTPs při stresových podmínkách?
3. Jak si vysvětlujete, že morfologické změny při deleci operonu *sigI-rsgI* a teplotním stresem ovlivňují tvar buněk, prokázali jste příslušnost k *sigI* operonu a zvýšenou expresi *mreB* při zvýšené teplotě, ale delece genu *mreB* morfologické změny nezpůsobila?

Práci považuji za nadprůměrnou jak obsahem, tak formou zpracování a doporučuji k obhajobě jako práci disertační neboť splňuje požadavky na tuto práci kladenou.

V Praze 11. 3. 2019

RNDr. Irena Lichá, CSc.

Katedra genetiky a mikrobiologie
Přírodovědecká fakulta UK
Praha