

Oponentský posudek na habilitační práci Mgr. Libora Krásného, PhD. „Transcription: The Pivotal Process of Gene Expression Regulation“

Habilitační práce Mgr. Libora Krásného, PhD. vychází z výsledků jeho vědeckovýzkumné činnosti, která je tématicky zaměřena na studium transkripce u bakterií. Transkripce jako první krok genové exprese představuje klíčový proces pro zajištění všech životních procesů a za reakce buněk na jejich prostředí. Pro objasnění těchto procesů je nutná znalost regulačních mechanismů, které umožňují transkripci zahájit a následně ovlivňovat její průběh a intenzitu. Pochopení principů regulace transkripce má zásadní význam nejen z hlediska základního výzkumu, ale je též předpokladem pro cílené ovlivňování exprese genů s širokým aplikačním potenciálem. Oblast výzkumu, jíž se dr. Krásný dlouhodobě a systematicky věnuje proto bezesporu patří v rámci oboru Genetika, molekulární biologie a virologie k vysoce aktuálním.

Habilitační práce vychází z 27 vybraných publikací autora, které vyšly převážně v uplynulých deseti letech. Práce je rozdělena podle tématických oblastí do 5-ti kapitol, v jejichž úvodních částech je pro danou oblast krátce shrnut současný stav poznatků a z něho vycházející dosud nezodpovězené otázky, na jejichž řešení se autor zaměřil. Dosažené výsledky dokládá svými vybranými publikacemi, v nichž dané téma řešil a které na tyto otázky přinesly odpovědi.

První kapitola je věnována modifikacím bází DNA a jejich vlivu na expresi genů. Autor prokázal, že modifikace bází včetně těch přirozených (5mC a 5mU) hrají důležitou roli v regulaci genové exprese prostřednictvím inhibice nebo stimulace transkripce.

Druhá kapitola je zaměřena na studium substrátů týkajících se iniciace transkripce na modelu regulace rRNA promotorů u *B. subtilis*. Bylo potvrzeno, že na regulaci transkripce mají vliv nukleotidové sekvence promotoru a iniciace transkripce pak zásadně ovlivňuje iniciátorový nukleotid iNTP (+1). Jedná se o nový způsob kontroly syntézy ribozomů zprostředkovaný regulací promotorů genů pro rRNA.

Třetí kapitola je zaměřena na interakce RNAP se specifickým typem RNA (sRNA - 6S RNA). Tento typ RNA byl nejdříve vyhledán přístupem *in silico* v genomech, a následně byla potvrzena její interakce s jádrem RNAP ovlivňující rychlost transkripce v různých fázích růstu buněk.

Čtvrtá kapitola, která je nejobsažnější, se týká interakcí RNAP s proteinovými partnery (představujícími tzv. interaktom), které plní zásadní funkce při regulaci transkripce. Detailně byly prostudovány interakce faktorů (věsměs podjednotek RNAP) s DNA, RNA a RNAP v jednotlivých fázích transkripce. Toto studium bylo provedeno u několika bakteriálních druhů a vyžadovalo stanovit strukturu zúčastněných proteinů, místa jejich vazby na interagující partnery a na základě těchto informací určit jejich funkci. Analýzy byly provedeny v úzké spolupráci s odborníky na strukturní biologii a přinesly mnoho původních a zcela nových poznatků.

Poslední tématický okruh vychází z požadavku na vývoj nových antibakteriálních látek, kde zásadním krokem je nalezení vhodných cílů pro jejich působení. Jako perspektivní se jeví inhibitory bakteriální RNAP. Podařilo se identifikovat nové chemické sloučeniny s těmito vlastnostmi – lipofosfonoxiny - účinné vůči grampozitivním i gramnegativním bakteriím a

objasnit mechanismus jejich účinku. Dosažené výsledky jsou základem a předpokladem pro přípravu nových typů antibiotik a lze očekávat jejich praktické uplatnění.

V závěrečné části práce autor nastiňuje další oblasti výzkumu, na které je třeba se zaměřit pro detailní objasnění fungování transkripčního aparátu. Jedním z aktuálních témat jsou procesy zahrnující komunikaci mezi buňkami, tedy oblast, která je z hlediska regulace genové exprese u bakterií dosud málo probádaná. Dosažené výsledky kromě jejich významu pro poznání procesu transkripce mají velmi široké perspektivní uplatnění v řadě biotechnologických a medicínských aplikací, kde je třeba kontrolovat expresi konkrétních genů.

Z přehledu publikací je zřejmé, že dr. Krásný dosahuje v dané oblasti výzkumu dlouhodobě prioritních výsledků, které značnou měrou přispěly k objasnění regulačních mechanismů transkripce jako jednoho ze základních životních procesů. O aktuálnosti a významu práce dr. Krásného svědčí fakt, že publikované práce vyšly v naprosté většině případů ve špičkových odborných časopisech. Jeho zásadní přínos na jejich zpracování odráží skutečnost, že téměř na polovině z nich je buď prvním nebo korespondujícím autorem. Z příložených publikací je zřejmé, že dosažení výsledků vyžadovalo zvládnutí a aplikaci široké škály nejen mikrobiologických a molekulárně genetických metod, ale též účinnou spolupráci dr. Krásného s týmy předních našich i zahraničních odborníků z dalších přírodovědných disciplin. Tyto spolupráce svědčí o schopnosti autora koncipovat svůj výzkum mezioborově, což je nezbytným předpokladem pro dosažení kvalitativně nových a prioritních výsledků.

K formálnímu zpracování práce nemám žádné negativní připomínky. Práce je sepsána bezchybně v anglickém jazyce, je přehledně uspořádána, s jasným vymezením problematiky v dílčích tematických okruzích a s výstižným shrnutím vlastních výsledků. Jelikož se jedná o práci habilitační, rád bych vyzdvihl i její vysokou pedagogicko-didaktickou úroveň.

Při obhajobě habilitační práce by bylo vhodné uvést některé z konkrétních možností praktického uplatnění dosažených výsledků.

ZÁVĚR

Celkově mohu konstatovat, že výsledky shrnuté v habilitační práci jsou původní a dokládají koncepčně vedený výzkum dr. Krásného v oblasti transkripce u bakterií. Habilitant výraznou měrou přispěl k objasnění faktorů ovlivňujících procesy transkripce a dosáhl v této oblasti řady původních a cenných výsledků. Skutečnost, že výsledky jeho práce byly zveřejněny v předních mezinárodních časopisech svědčí o jejich vysoké vědecké hodnotě a tím jednoznačně prokazují vědeckou erudici autora v oboru Genetika, molekulární biologie a virologie. Doporučuji proto, aby předložená práce byla přijata jako práce habilitační.

V Brně, 17. 6. 2019

prof. RNDr. Jiří Doškař, CSc.
Ústav experimentální biologie
PřF MU
Kotlářská 2
611 37 Brno