



Posudek oponenta na dizertační práci Ing. Kláry Šmídové „**Analýza a mapování vazebných míst regulátorů genové exprese u streptomycet**“.

Tato dizertační práce se zabývá modelovým bakteriálním organismem rodu *Streptomyces* a popisuje regulon hlavního faktoru sigma HrdB a identifikuje tři nové malé antisense RNA (asRNA) pro faktory SigB, SigH, a SigR. Dizertační práce prezentuje výsledky, které pomáhají vytvořit přesnější model mechanismů, které se podílejí na regulaci genové exprese u streptomycet, důležitých producentů antibiotik.

Předložená disertační práce je psána v anglickém jazyce a je klasicky členěna na Abstrakt, Úvod, Materiály a Metody, Cíle, Výsledky a Diskusi. Práce má celkový rozsah 180 stran. Úvod je velmi dobrou rešerší! Poskytuje dostatečné informace pro četbu následujících kapitol. Pouze občas se vyskytují nepřesnosti, např. streptomycety a *Streptomyces ceelicolor* nejsou rekordmany v počtu faktorů sigma jak tvrdí autorka (str. 1): *Sorangium cellulosum* (Myxococcales) jich má 109; dále pak formát citací: je zvykem, pokud jsou citovány dvě práce jednoho autora z téhož roku, jsou rozlišeny jako a, b [Straková et al., (2013), Straková et al., (2013) není správně].

Výsledková část je postavena na třech publikacích, kdy dvě jsou originální články a jedna je článkem přehledovým (review). KŠ je pak první autorkou jednoho článku a to ve vysoce kvalitním časopise *Nucleic Acids Research*. U dizertace mi chybělo přiložení těchto publikací ve formě Dodatku. Naopak, nebylo třeba na počátek výsledkové části znovu vkládat jakýsi další úvod – k tomu byl vlastní úvod a cíle práce. Vysoko hodnotím mimořádně rozsáhlou Diskusi a důkladnost, s jakou autorka diskutovala své experimentální výsledky. Celkově pak je práce napsána čtivě – celkový dojem je výrazně kladný. Pouze občas je anglický text kostrbatý a logický tok ne zcela plynulý; tady bych v budoucnosti doporučil korekturu.

#### **Komentáře/Otázky:**

1. Proč jste zvolila jako afinitní kotvu epitop HA (a ne třeba FLAG)? Dobrá zkušenost z minulosti?

## 2.

**2.1.** V tabulce 5 na str. 108 ukazujete varianty promotorové sekvence rozpoznávané HrdB. Varianta GG (23 %) má na pozicích -13 a -14 dva guanosinové nukleotidy. Mají geny řízené těmito promotory něco společného, např. funkčně?

**2.2.** Tato sekvence je v místech, kde se obvykle nachází rozšířený motiv -10 (pokud je přítomen). GG se liší od TG v jedné bázi. Tento motiv interaguje s oblastí 3 faktoru sigma. Je v sekvenci HrdB v této oblasti (3) jiné aminokyselinové složení (oproti např. *E. coli* nebo *B. subtilis*), které by odpovídalo jiné bázi?

**2.3.** Nalezli jste také klasický rozšířený motiv -10 (TGx)?

**3.** Našli jste tři nové asRNA a prokázali jejich expresi v divokém kmeni a kmeni bez RNasy III, která degraduje dvou-vláknovou RNA (obr. 31).

**3.1.** Mají tyto asRNA nějaké specifické sekundární struktury, které by mohly být důležité pro jejich funkci?

**3.2.** Z jakých promotorů je řízena jejich exprese (RNAP s jakými sigma faktory)?

**3.3.** Jsou tyto promotorové sekvence konzervovány v různých druzích streptomycet?

**4.** Jaké další směry svého výzkumu byste navrhla?

Závěrem konstatuji, že dizertační práce působí uceleným dojmem, splňuje požadavky kladené na dizertační práci v oboru, a prezentované výsledky splňují kritéria originální tvůrčí vědecké práce. Dizertační práci doporučuji k obhajobě a přeji uchazečce mnoho úspěchů v další práci.

Praha 9. 10. 2020

Doc. Mgr. Libor Krásný, PhD

Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i.  
Víteňská 1083  
142 20 Praha 4  
Tel. 241 063 208  
e-mail [krasny@biomed.cas.cz](mailto:krasny@biomed.cas.cz)