

## Genová výbava producentů biologicky aktivních látek v půdních bakteriálních společenstvech

Diplomová práce Petry Šanderové se zabývá aktuálním tématem vyhledávání nových antimikrobiálních látek v přírodě. Přístup je velmi originální: sbírka aktinomycet z různých typů půd (předpoklad různých typů sekundárních metabolitů) je screenována na homology genu rezistence k antibiotiku linkomycinu, který u producenta přiléhá k biosyntetickému shluku genů pro linkomycin. Předpokladem je, že izoláty nesoucí homology genu rezistence budou nést i geny pro biosyntézu antibiotik podobných linkomycinu. Pro řešení vytyčených úkolů je použita vhodná metodika, a z práce je patrné, že kandidátka pochopila a zvládla poměrně široké spektrum metod molekulární biologie mikroorganismů.

Diplomová práce je psána jasným a srozumitelným stylem. V literárním přehledu kandidátka podrobně a zároveň čtivě rozebírá problematiku vývoje nových antibiotik, rezistencí na antibiotika a důležitost antibiotik linkomycinového typu. Přehledně popisuje mechanismy rezistence s důrazem na ABC transportéry, ke kterým patří vybraný *LmrC*. Oceňuji také stručné vysvětlení použitých metod v závěru přehledu. K literárnímu přehledu mám pouze následující výtky. Popis biosyntézy linkomycinu považuji za příliš obširný, zvážíme-li, že práce nebyla zaměřena na geny biosyntézy ale na geny rezistence. Naopak bych doporučila zaměřit se na fylogenetické vztahy mezi vybraným genem *lmrC* a geny pro ostatní ABC transportéry, jejichž pochopení je důležité pro strategii vyhledávání homologů *lmrC*. Také popis skupiny streptomycet je velmi obširný a nezbyvá zde mnoho prostoru pro jiné zajímavé aktinomycety.

V následující kapitole kandidátka popisuje jednotlivé použité metody. Doporučila bych uvádět výchozí (či finální) koncentrace látek použitých pro PCR reakce, samotné objemy uvedené např. v Tab. 3.2. jsou nic neříkající. Na závěr zde chybí podkapitola s metodikou použitou pro tvorbu fylogenetických stromů.

Výsledky jsou prezentovány přehledně a ve srozumitelném sledu. Pouze u Obr. 4.3 a Obr. 4.4. není jasné, co sloužilo jako templátová DNA pro PCR genu *lmrC* (chybí popisky jamek). Výsledky zahrnují i *in silico* zpracování dat, tedy porovnání sekvencí získaných homologů genu *lmrC* s podobnými sekvencemi z GenBanku. Tento přístup vedl k identifikování několika potenciálních producentů nových antibiotik.

V Diskuzi byl pak výběr možných producentů zvážen vzhledem k dalším výsledkům obdržným ve skupině, tedy sekvencím homologů genu *lmrB* a genu 16S rRNA. Vhodně zvolený přístup v této práci umožnil dostat se až k sekvenaci okolí rezistenčního genu, které může obsahovat nové geny biosyntézy antibiotik. Zároveň kandidátka ukázala, že dokáže své výsledky začlenit do širšího kontextu, jak v rámci pracovní skupiny, tak v rámci publikovaných výsledků a databází.

Drobné připomínky:

1. Vyskytují se problémy s pravopisem, např.

S. 9, ř. 7: *vyplývá*, ne *vyplívá*

S. 37, ř. 5: mezi *nimi*, ne *nimy*

**Genová výbava producentů biologicky aktivních látek v půdních bakteriálních společenstvech**

2. Obr. 2.11. Chybí popis jednotlivých kroků u principu elektroforézy.
3. Seznam literatury, reference Aminov and Mackie, 2007: Chybí mezery mezi slovy.
4. Seznam literatury: Názvy jmen mikroorganismů nejsou psány kurzívou.

Práce je celkově, tedy výběrem tématu, použitou strategií, zvládnutím metod, zpracováním a vyhodnocením výsledků a redakční stránkou na velmi dobré úrovni. Výsledky jsou dobrým základem pro vědeckou publikaci.

Práci doporučuji k obhajobě a navrhuji známku *výborně*.

Otázky:

1. Jak by vymezila pojem *vzácné aktinomycety*, který používá v úvodu?
2. Proč si pro vyhledávání možných producentů vybrala sledování genů rezistence a ne přímo některé skupiny genů biosyntézy antibiotik (např. metyltransferázy, glycosyltransferázy podílející se na tvorbě cukerné části antibiotika)?
3. Jak mohou být její výsledky ovlivněny v prostředí se šířící rezistencí na antibiotika, kterou zmiňuje v úvodu?
4. Experimentálně byla annealingová teplota pro gen *lmrC* s primery rC4f a rC4r stanovena na 62°C. Tyto primery jsou ovšem degenerované (jedná se vždy o směs oligonucleotidů s různými sekvencemi), tak aby nasedaly na různé homology genu *lmrC*, a jejich vypočtené annealingové teploty se pohybují v rozsahu cca 55-65°C. Nemohlo tedy dojít k falešně negativním výsledkům pro AT-bohatější homology genu *lmrC* (takové, kde se primery blíží svou annealingovou teplotou k vypočtené dolní hranici 55°C) při jednotném použití annealingové teploty 62°C?

V Českých Budějovicích dne 21. 5. 2010

Mgr. Martina Kyselková, Ph.D.