

Posudek školitele na diplomovou práci:

Bc. Volha Ramaniuk -*Mycobacterium smegmatis* growth on agar plates and agar plates covered with cellophane – morphological and proteomic study

Předložená diplomová práce je částí rozsáhlejšího projektu laboratoře, který se zabývá tvorbou biofilmů *Mycobacterium smegmatis* na nejrůznějších površích, a to z hlediska morfologie těchto struktur a změn v expresi genů na úrovni proteinů, které se na tomto procesu podílejí.

Vzhledem k tomu, že problematika biofilmů u mykobakterií je ve vědecké literatuře zastoupena poměrně řídko a proteomické studie biofilmů u mykobakterií nejsou publikované vůbec, literární rešerše k uvedenému tématu vyžadovala poměrně široký záběr čerpající velmi často z obecnějších přehledných článků.

Další zvláštností biofilmů mykobakterií je, že nevytvářejí klasickou polysacharidovou extracelulární matrix jako většina ostatních bakterií, nýbrž adheze buněk navzájem a vazba k nejrůznějším povrchům je patrně zprostředkována extracelulárními volnými mastnými kyselinami. Je proto důvodné očekávat, že tvorba biofilmů u mykobakterií bude regulována odlišnými procesy s využitím dosud nedefinovaných proteinů.

Cílem práce bylo srovnat morfologii tvorby biofilmu na agaru a na agaru pokrytém celofánem a zároveň u těchto dvou povrchů porovnat proteomové složení těchto biofilmů. Tyto dva povrchy byly zvoleny proto, že kultivace na agaru je tou nejběžnější technikou v mikrobiologické laboratoři a v případě celofánu byla prakticky celá molekulární analýza regulace morfologické a biochemické diferenciaci u blízce příbuzných streptomycet provedena na materiálu kultivovaném na celofánu. Nicméně nikdo se nezabýval otázkou, zda vložení porézního celofánu nějakým způsobem ovlivňuje morfologii a genovou expresi na něm vyrostlých kolonií.

Olga v práci prokázala, že morfologii biofilmu ovlivňuje jak typ povrchu, tak i volba zdroje uhlíku v médiu. Proteomová srovnání ukázala na 7 unikátních bílkovin, které by mohly být specifické pro adhezi *M. smegmatis* na povrch celofánu, a na 46 unikátních bílkovin, které by mohly být důležité pro planktonický růst v tekutém médiu. Kvantitativní analýza odhalila pouze 3 proteiny se změnou exprese ve všech proteomech. Tento zřetelný nepoměr ukazuje, že klíčovou úlohu, při reakci bakteriální kultury na různé kultivační podmínky (při zachování složení kultivačního media) má exprese nových specifických proteinů spíše než modifikace úrovně exprese těch společných. Identifikace genů kódujících tyto proteiny, pomocí hmotnostní spektrometrie, není součástí této práce, protože je to technika, která se provádí na spolupracujícím pracovišti, jehož kapacita je velmi vytížená, ale zejména proto, že samotná tabulka identifikovaných proteinů je pouze vstupní informací pro rozsáhlou práci s literaturou. Ta je obtížná i pro zkušené badatele, ale zejména vyvolá téměř vždy potřebu provedení řady dalších experimentů, tak aby bylo možné ze získaných výsledků vyvodit nějaké smysluplné závěry. Tato část proteomové analýzy by zřetelně byla nad rámec časových možností autorky a rozsahu diplomové práce.

Olga prokázala během práce na projektu vysokou míru pracovního nasazení, zájem o problematiku i v jejím širším kontextu a schopnost samostatně pracovat s vědeckou literaturou. Snadno si osvojovala nové laboratorní metody a vyznačovala se mimořádnou pečlivostí při pořizování laboratorních záznamů, což je schopnost v práci laboratoře nadmíru důležitá.

Diplomovou práci doporučuji přijmout k obhajobě a hodnotím ji známkou: **výborně**.



RNDr. Jaroslav Weiser CSc.
školitel