

OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

AUTOR

Mgr. Jaroslav Nunvář, PřF UK Praha

NÁZEV

Bakteriální REP elementy: původ, variabilita a využití

POSUDEK

Práce je logicky strukturovaná na úvod, literární přehled, publikace autora, diskuzi a reference. Diagramy, grafy a ostatní obrazová příloha výborně doplňuje textovou část. Struktura a terminologie práce je logická a výstižná a přispívá ke srozumitelnosti velmi koncentrovaného odborného textu.

AKTUÁLNOST TÉMATU

Mobilní genetické elementy jsou vzhledem k jejich kapacitě intra-klonálního, inter-klonálního a mezidruhového přenosu DNA mimořádně zajímavými strukturami. Jejich funkce u klinicky významných bakterií, s výjimkou horizontálního přenosu rezistence k antibiotikům, je velmi málo prostudována. Předložená originální práce právě v tomto aspektu vyplňuje mezeru u fluorescentních pseudomonád a *Stenotrophomonas maltophilia*, dost možná s obecnější platností i pro jiné druhy z této skupiny gramnegativních nefermentujících tyčinek.

SPLNĚNÍ CÍLŮ

Velmi zajímavé dílčí cíle (1-3) byly beze zbytku splněny.

1. Bioinformatická analýza nové rodiny tyrosinových transponáz (RAYT - Rep-associated tyrosine transposase).

Analýza prokázala transponázy s charakteristickými motivy aminokyselin a asociaci s inverzními repeticemi s konzervovaným tetranukleotidem a palindromem. Vyslovená hypotéza o interakci proteinů RAYT a sekvencemi REP byla následně i potvrzena jinými autory. Rovněž byla potvrzena hypotéza o zásadním významu proteinů RAYT v diseminaci a diversifikaci REP elementů a tvorbě unikátních struktur BIME.

2. Detailní analýza diverzity elementů REP a proteinů RAYT.

Analýza prokázala diversitu proteinů RAYT a elementů REP u fluorescentních pseudomonád a stenotrofomonád. Vysoká četnost elementů REP byla vždy podmíněna přítomností asociovaného proteinu RAYT. Vysoká diversita těchto elementů pravděpodobně souvisí s jejich vysokou aktivitou v průběhu evoluce obou mikrobiálních skupin a regulací transkripce zprostředkované elementy REP.

3. Zavedení nové metody pro genotypizaci izolátů z prostředí a klinických izolátů *S. maltophilia*.

Klonální analýza (genotypizace) je nezbytná zejména při studiu ekologie (environmentální izoláty) a epidemiologie (klinické izoláty) bakterií. Při analýze většího počtu izolátů, která je většinou nezbytná pro získání komplexnějšího obrazu se cena analýzy stává limitujícím faktorem. Originální cenově dostupná fingerprintová analýza SmrepPCR pomocí amplifikace úseků ležících mezi elementy REP je vynikající alternativou k cenově náročným sekvenačním metodám (MLST, sekvenace genu *gyrB*), se kterými výborně koreluje, na rozdíl od finančně náročné makrorestrikční analýzy DNA.

METODY ZPRACOVÁNÍ

V experimentální části práce byla použita široká paleta moderních molekulárně-biologických metod, jejichž vyhodnocení a interpretace vyžaduje velmi dobrou znalost vyhodnocovacích metod.

VÝSLEDKY A JEJICH ORIGINALITA

Vhodně zvolené téma s řadou originálních výsledků (viz Splnění cílů).

PŘIPOMÍNKY A DOTAZY

Přehledná obrazová část s legendami, umožňuje rychlou orientaci v problematice. V práci jsem našel pouze nevhodný termín anglikanismus - "s rapidní diverzifikací REP elementů" (str.52, 2. odstavec). Rovněž anglický slovosled, běžně široce používaný v biologické terminologii, není formálně úplně na místě: např. *RAYT proteiny* namísto *proteiny RAYT*; *REP elementy* namísto *elementy REP*. Tyto drobné terminologické prohřešky však nesnižují kvalitu této originální disertační práce.

Otázky:

* Jak si lze vysvětlit mechanismus, kterým se zamezí letálnímu nahromadění elementů REP? Je známa jen inaktivace proteiny RAYT nebo jsou známy i jiné mechanismy?

* Jaký má význam palindromová sekvence u elementů REP?

* Jaký byl přibližný počet ampliconů v profilech (fingerprintech) SmrepPCR analyzovaných izolátů *S. maltophilia*? Jak to koreluje s počtem elementů REP u *S. maltophilia*?

DOPORUČENÍ PRÁCI K OBHAJOBĚ

Doktorand prokázal teoretické, experimentální a formulační znalosti, které využil při sepsání disertační práce. Předloženou disertační práci hodnotím výborně a doporučuji k obhajobě.



MVDr. Oto Melter, PhD.

v Praze 19.11.2013

Ústav lékařské mikrobiologie
2. lékařská fakulta UK
V Úvalu 84
150 06 Praha 5