

Cílem diplomové práce Bc. Barbory Buryškové bylo ověření exprese predikovaných 6S-like nekódujících RNA u modelové bakterie *Streptomyces coelicolor* pomocí RT-PCR a prokázání interakce těchto RNA s housekeeping sigma faktorem HrdB pomocí RNA koimunoprecipitace.

Práce je klasicky členěna do kapitol zahrnujících Literární přehled, Materiál a Metody Výsledky, Diskuzi a Shrnutí.

V „Literárním přehledu“ autorka nastínila průřez dosavadních poznatků o ekologii a životním cyklu diferencující modelové půdní bakterie *Streptomyces coelicolor*. Druhá část přehledu je věnována regulaci exprese na transkripční úrovni, s důrazem na úlohu sigma faktorů, které jsou u *S.coelicolor* reprezentovány 64 regulátory. Aktivita sigma faktorů je dále regulována na několika úrovních, mimo jiné i nekódující 6S RNA.

V kapitole „Materiál a Metody“ jsou vyčerpávajícím způsobem popsány použité metody. Autorka použila široké spektrum pokročilých technik od izolace RNA, koprecipitace nukleoproteinového komplexu, imunodetekci proteinů pomocí Western přenosu, extenzi primeru pro detekci konce RNA, syntézu cDNA, RT PCR, Northernův přenos a kvantitativní PCR (qPCR). Samozřejmostí byly elektroforetické separace DNA, RNA a proteinů a klonování. Pouhý výčet použitých metod je impozantní a svědčí o úspěšném zvládnutí náročných molekulárně-biologických metod.

V kapitole „Výsledky“ je popsán průběh a výsledky experimentů, které měly prokázat přítomnost 6S-like RNA interagující s HrdB. Zatímco důkaz přímé interakce nebyl průkazný, autorka demonstrovala expresi šesti z celkem sedmi predikovaných 6S-like RNA pomocí RT-PCR.

Mapování 5'-konce RNA bylo úspěšné pouze v jednom případě, a to u 6Sc7, což nasvědčuje minimální koncentraci nc RNA.

Poslední kapitolou diplomové práce je „Diskuze“, ve které autorka shrnula výsledky experimentů a zamýšlí se nad jejich signifikancí. Lze konstatovat, že i přes některé negativní výsledky, jevem častým ve vědecké práci, je autorka dokázala interpretovat v celkovém kontextu.

Diplomová práce je napsaná v anglickém jazyce na velmi slušné úrovni. Narazil jsem jen na velmi malý počet neobratných nebo nepřesných vyjádření. Ve všech případech se jednalo o slohové záležitosti, které neměly meritorní smysl. Nebudu je proto ani uvádět.

K věcnému obsahu si dovoluji položit autorce následující dotazy:

- 1) Finálním výsledkem koimunoprecipitačního experimentu byla částečná sekvence 16S ribozomální RNA. Může autorka uvést odkazy na literární údaje, ve kterých je zmínka o podobných artefaktech? Jak lze vysvětlit takový výsledek?
- 2) Autorka uvádí, že množství RNA izolované v koimunoprecipitačním experimentu bylo velmi nízké, pod hranici citlivosti přístroje Qubit Fluorimeter. Jsou tak nízké výtěžky RNA běžné? O mohlo být příčinou takového výsledku?
- 3) Prosím o podrobnější vysvětlení diskutovaných výsledků TA klonování uvedeného v kapitole 6.1 „Diskuze“.

Celkově hodnotím předloženou diplomovou práci kladně, a to jak vzhledem k její formě tak i obsahu. Po úspěšném veřejném přednesu a obhajobě doporučuji udělení titulu Mgr.

V Praze, 9. 2. 2018



RNDr. Pavel Branny, CSc.