



INSTITUTE OF MICROBIOLOGY

Academy of Sciences of the Czech Republic

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci Mgr. Martina Kuthana „Kvasinkové kolonie jako model mnohobuněčného chování mikroorganismů“

V předložené disertační práci se Mgr. Martin Kuthan zabývá aktuálním tématem, jímž je studium chování kvasinkových kolonií. Tématicky tato disertace navazuje a podstatným způsobem rozšiřuje výsledky pracovníků Katedry mikrobiologie a molekulární biologie PřF UK Praha, kde pod vedením Doc. Palkové také vznikla. Disertace má formu souhrnu tří původních prací doplněným o stručný úvod do studované problematiky. Mgr. Martin Kuthan je na první zahrnuté publikace druhým a dalších dvou pracích prvním autorem.

Spojujícím prvkem disertace je zaměření experimentů na studium fyziologického stavu kvasinek v koloniích. Oproti běžně studovaným třepaným kulturám je chování kvasinek v kolonii zřejmě zcela přirozené a jejich přirozené fyziologické projevy nejsou tolik ovlivňovány do jisté míry nepřirozeným způsobem kultivace v třepané aerované kultuře. Celý soubor prací je uveden literární přehledem, který vychází z recentních prací, je velmi koncisně zpracován a týká se zejména případů řešených v zahrnutých článcích. Zahrnuje zejména přehled signálních drah, které se na kontrole růstu kolonii podílejí, diskusi o jejich úloze a o zapojení nedůležitějších genů.

První práce Minariková et al. (2001) zveřejněná v kvalitním časopise *Exp. Cell Research* se zabývá hledáním genů, které mají význam ve vývoji kvasinkových kolonií. Ve druhé práci Zikánová et al. (2002) je řešena velmi otázka vlivu specifických permeáz na přenos signálu mezi kolinemi. Autoři prokázali, že zdrojem k produkci plynného amoniaku kolonii *S.cerevisiae* jsou extracelulární aminokyseliny. Třetí práce Kuthan et al. (2003), které je Martin prvním autorem, byla zveřejněna v prestižním časopise *Molecular Microbiology*. Tato práce se týká analýzy genové exprese související s „fluffy“ morfologií kvasinkových kolonií. Autoři ukázali, že růst tohoto typu kolonie je zřejmě metabolickou obranou kvasinek nezbytnou pro jejich přežití po přenosu z laboratorních podmínek velmi bohatých na zdroje do méně příznivého prostředí.

Disertační práce je ukončena jednostránkovou závěrečnou kapitolou, ve které je diskutována historie vzniku nejznámějšího kvasinkového laboratorního kmene S288C, který také byl východiskem pro vytvoření různých kolekcí kvasinkových mutantů či intragenově značených kmenů. Tento kmen je zřejmou ukázkou, že chování laboratorních kmenů může být podstatně odlišné od kvasinkových kmenů izolovaných z přírodního prostředí.

Vzhledem k tomu, že většina prezentovaných výsledků ve formě rukopisů již úspěšně prošla recenzním řízením před zveřejněním, lze konstatovat, že podobně jako použitý experimentální přístup jsou dosažené výsledky na velmi dobré úrovni. Disertant je na první zahrnuté práci uveden jako druhý autor, proto by bylo vhodné při obhajobě upřesnit jeho metodický, experimentální a intelektuální podíl při přípravě této publikace. Toto upřesnění se týká také druhé zahrnuté práce, ve které je jedním ze dvou druhých autorů.

K disertační práci mám následující připomínky a dotazy:

- 1) V úvodu mi chybí stručné definování cílů, podobně jako v závěru, kde zase mi chybí stručné shrnutí získaných poznatků. Prosim, uveďte při obhajobě.
- 2) Jako hlavní rozdíl mezi studiem kolonií a třepaných kultur vidím v odlišném přístupu buněk ke kyslíku a k živinám. Jsou tyto rozdíly v koloniích pozorovatelné?
- 3) U mnohobuněčných organismů existuje extracelulární matrix, která má svůj význam v adhezenci a seskupování buněk do tkání. Existuje něco podobného u kvasinkových kolonií?

Závěr: Disertační práce Mgr. Martina Kuthana má velmi dobrou úroveň. V prezentovaných publikacích je aplikováno široké spektrum technik. Výsledky obsažené v disertační práci lze přiřadit ke špičkovým poznatkům molekulární buněčné biologie kvasinek. Disertační práce má všechny potřebné formální náležitosti a vyhovuje kritériím, která jsou kladena na doktorskou disertační práci. Práci doporučuji k obhajobě a doporučuji hodnocení výborně.

V Praze dne 10.8.2007

Ing. Jiří Hašek, CSc.