



Posudek oponenta na disertační práci Mgr. Jakuba Rídla „**Metagenomické profilování mikrobiálních společenstev**“.

Tato disertační práce je zaměřena na sekvenace genomů, respektive metagenomů mikroorganismů z prostředí ovlivněných lidskou činností. V některých případech je pak popis společenstev doplněn sekvenací (meta)transkriptomů, což vypovídá o aktivitě jednotlivých mikroorganismů. Následné bioinformatické zpracování pak poskytuje řadu cenných informací o studovaných společenstvích i jejich členech.

Jakub Rídl je v rámci studia PhD spoluautorem 14 publikací v impaktovaných časopisech, z nichž je v jednom případě prvním autorem a v jednom případě sdíleným prvním autorem. Publikace mají dobrý citační ohlas, dosavadní počet citací (pravděpodobně i za práce předcházející studiu PhD) je 350, což je velice solidní statistika.

Disertační práce je psána česky a je rozdělena do tří celků podle tří nejvýznamnějších prací; u dvou z nich je JR prvním autorem. Těmto třem celkům předchází Úvod, kde je stručný a přehledný popis historie sekvenování až po současnost, s diskusí předností a limitací jednotlivých přístupů a platform. Navazuje část věnovaná problematice sestavování genomových sekvencí, předpovídání kódujících sekvencí, a anotaci. Poslední část Úvodu mapuje přístupy studia mikrobiálních společenstev. Následuje definování cílů a již zmíněné tři celky, které jsou dále členěny na Materiál a Metody, Výsledky a Diskusi. Práci uzavírá kapitola Směr dalších výzkumů a Závěr. Práce je napsána přehledně a čtivě, je vidět výborná autorova znalost problematiky. K formální stránce mám pouze drobné připomínky:

- (i) Seznam zkratk není řazen abecedně.
- (ii) Některé pasáže/výrazy jsou stylisticky problematické, či obsahují gramatické chyby. Mezi nejvýraznější příklady prvního patří anglikanismus *trimování*, který by bylo lépe nahradit výrazem *zarovnání*. Příkladem druhého je *...amlikonové sekvenování jsme zacílily...* (str. 85, 2. řádek 2. odstavce).
- (iii) Jméno jednoho ze zakladatelů molekulární fylogenetiky je *Woese* (nikoli *Woerse*).
- (iv) Špatná čitelnost popisků v některých obrázcích (např. 5.4).

**První výsledkový celek** je stanovení a bioinformatická analýza genomu *Achromobacter xylosoxidans* A8. Tento organismus dokáže využívat polychlorované bifenyly jako zdroj uhlíku a je kandidátem na organismus pro bioremediaci takto kontaminovaných lokalit.

### Otázky:

- 1/ Jedna z použitých sekvenačních strategií bylo 454 pyrosekvenování. Tato práce však vyšla již v roce 2011. Vzhledem k rozvoji sekvenačních metod, má tato strategie v současnosti ještě uplatnění?
- 2/ Chromozóm a plasmid pA82 mají rozložení GC-skew, které naznačuje jeden replikační počátek a terminaci replikaci. V případě plasmidu pA81 je toto rozložení mnohem méně pravidelné. Jaké je vysvětlení?

**Druhý výsledkový celek** je metagenomická analýza a rekonstrukce genomu členů bakteriálního společenstva z extrémně kyselého ekosystému důlní vody ve Zlatých horách. Zde bylo provedeno jak sekvenování DNA tak i RNA. Tato analýza odhalila složení společenstva, kde dva dominantní druhy jsou *Ferrovum myxofaciens* ZH7 a *Acidithiobacillus*, linie ZH7B.

### Otázky:

- 3/ Genomové sekvence dvou zmíněných dominantních druhů se podařilo sestavit téměř celé. Co znamená *téměř*, a co znemožnilo jejich kompletaci?
- 4/ Ve vzorku bylo řádově vyšší množství transkriptů pro *Acidithiobacillus* než pro *Ferrovum*, přestože množství ampliconů byla srovnatelná. Jaká jsou možná vysvětlení tohoto rozdílu?
- 5/ Byly v transkriptomech identifikovány i malé nekódující RNA (sRNA), které mohou mít důležité regulační funkce (např. 6S RNA nebo asRNA)?
- 6/ Kromě u těchto dvou dominantních druhů (*Acidithiobacillus*, *Ferrovum*) byly identifikovány nejvíce transkribované geny i u ostatních členů společenstva. Zajímavé je, že 8 z 10 vykazovalo shodu pouze s hypoteticky predikovanými geny, nebo byly zcela bez podobnosti se známými sekvencemi. Vysoká míra exprese naznačuje jejich důležitost: Existuje/je plánován projekt zaměřený na identifikaci funkce proteinů kódovaných těmito geny, alespoň na biochemické úrovni?

**Třetí výsledkový celek** je metagenomické profilování komplexní komunity půdních bakterií z kontaminované zeminy a analýza vlivu rostlin na jejich složení a funkční potenciál. Data ukázala, že rozhodujícím faktorem pro formování mikrobiálních společenstev má přítomnost rostlin, nikoli např. aplikace chemického hnojiva.

### Otázky:

- 7/ Existují předchozí studie z jiných laboratoří, kde byl sledován vliv hnojiva a rostlin na složení mikrobiálních společenstev (viz kapitola 5.3.3 na str. 88), a kdy v závislosti na studii buď byl, nebo nebyl prokázán vliv hnojiva na mikrobiální

společenstva. Můžete stručně porovnat experimentální uspořádání těchto studií s vaší prací, a zda je možné formulovat nějaké resumé ohledně této závislosti?

Závěrem konstatuji, že disertační práce působí uceleným dojmem, splňuje požadavky kladené na disertační práci v oboru, a prezentované výsledky splňují kritéria originální tvůrčí vědecké práce. Byla radost ji číst. Disertační práci doporučuji k obhajobě a přeji uchazeči mnoho úspěchů v další práci.

Praha 18. 7. 2016

Mgr. Libor Krásný, PhD

Mikrobiologický ústav AV ČR, v. v. i.  
Vídeňská 1083  
142 20 Praha 4  
Tel. 241 063 208  
e-mail [krasny@biomed.cas.cz](mailto:krasny@biomed.cas.cz)