

## Posudek oponenta na dizertační práci

Autor: RNDr. Tomáš Rieger

Název práce: Morfogeneze a vzájemné ovlivňování bakteriálních kolonií.

Předložená práce RNDr. Tomáše Riegera se zabývá studiem morfogeneze bakteriálních kolonií a jejich vzájemné komunikace u bakterií rodu *Serratia*. Cílem práce bylo jednak zjišťování vlivu okolního prostředí na růst a vývoj bakteriálních kolonií a jednak studium interakcí ovlivňujících jejich morfologii. Ambiciózním cílem práce bylo studium povahy a mechanismu signalizace mezi koloniemi s následnou identifikací konkrétní signální molekuly. Práce je rozšířením předchozího výzkumného tématu autora a jeho kolegů, věnovaného výzkumu kolonií především u bakterií rodu *Serratia*.

Disertační práce je předkládána v klasickém monografickém formátu a respektuje formální požadavky OR studijního programu Filozofie a dějiny přírodních věd pro studenty zapsané před akademickým rokem 2013/2014. Práce má rozsah 72 stran a její spoučastí jsou dvě publikace uvedené v příloze, přičemž u jedné z nich je T. Rieger hlavním autorem.

Teoretická část sice odpovídá tématu, nicméně je pojata podle mého názoru zbytečně široce a tudíž se autor jednotlivým dílčím tématům věnuje pouze velmi povrchně. Podle mého názoru by bylo vhodné sloučit obecné podkapitoly (1.1. až 1.3) věnované komunikaci pouze do krátkého úvodu a poté se již plně soustředit přinejmenším na komunikaci a signalizaci u bakterií, případně ještě lépe pouze u skupiny gram-negativních bakterií. Vzhledem k tomu, že o signalizaci u bakterií bylo v uplynulých dekádách publikováno nepřeborné množství prací mnoha výzkumných týmů, mohl se autor pokusit vytvořit určitý nadhled, který by vhodně doplňoval experimentální část jeho práce a mohl by být i vodítkem pro případné další experimenty. Kromě tohoto subjektivního pohledu, však některé pasáže teoretického úvodu objektivně trpí (vzhledem k poznámce o přílišné šíři tématu) přílišným zjednodušením či dokonce nepřesností. To lze ukázat na následujících příkladech:

Není mi zcela jasná logika uspořádání některých kapitol: proč je v úvodu zastoupena skutečně spartánsky pojatá kapitola 1.3.3. Komunikace u hub, nezahrnující komunikaci u mikroskopických hub (kvasinek). Navýše samostatná kapitola (1.3.4.1. Kvasinky) věnovaná této problematice se věnuje v pouze velmi malé části výzkumu na tomto poli a zcela pomíjí rozmanitost komunikace u celého spektra např. patogenních kvasinek rodů *Candida* či *Cryptococcus* (quorum sensing, interakce v biofilmech atd.). Pokud zůstaneme u kapitoly 1.3.4.1. Kvasinky, autor zcela pomíjí novější práce ukazující molekulární a metabolický pohled do fungování kvasinkových kolonií a zmiňuje pouze "obecné" a tudíž značně zjednodušené znalosti z prací z let 1997 či 2000. Stejným způsobem by se dalo pokračovat v úvahách i u kapitoly 1.4 věnované bakteriální komunikaci. Na výše zmíněných příkladech jsem se pokusil ukázat, že větší zacílení teoretické části práce by rozhodně zvýšilo její celkovou hodnotu.

Naopak experimentální část práce je zdařilá, autor vysvětluje smysl experimentů a dostatečně dokumentuje jejich výsledky. Vzhledem k tomu, že se jedná o skutečně inovativní výzkum s předem

těžko odhadnutelnými výstupy, oceňuji šíři použitých přístupů ale i spolupráci při využití metod, jimiž výzkumná laboratoř autora nedisponovala. Naopak slabší částí experimentální části práce je kapitola 3.2. Materiál a metody. Zde se autor sice na jedné straně snažil popsat principy metod i s uvedením zdroje, avšak příprava vzorků a příslušná metoda již neobsahuje potřebnou citaci. Není tedy zřejmé, zda byl použit standardní postup dle publikované metodiky, či zda se jedná o modifikaci protokolu zavedenou z nějakého důvodu autorem. Z experimentální části práce zároveň není jasně zřejmé, které experimenty prováděl samotný autor a které analýzy a experimenty či jejich části byly provedeny jeho kolegy či partnerskými laboratoři. Prosím proto o komentář k podílu autora na experimentech během obhajoby. Závěrečnou částí experimentální práce je diskuze, kde autor zasazuje získané výsledky do kontextu publikovaných znalostí. Dovolím si konstatovat, že pokud by autor lépe zacílil teoretickou část práce a mohl tak lépe propojit své výsledky s již publikovanými daty, mohla být kapitola Diskuze zlatým hřebem práce. Tento potenciál však autor (vzhledem k tomu, že především pouze komentuje vlastní výsledky) plně nevyužil. Doporučuji proto při případné přípravě následné publikace věnovat této části náležitou pozornost.

I přes uvedené výtky, kterými jsem autora chtěl spíše nasměrovat (doufám) než odradit od další práce, hodnotím práci jako zdařilou a velmi oceňuji invenční přístup k studovanému tématu. Nutno podotknout, že tento typ základního výzkumu nemá dopředu naplánované záchytné body či přesnou trajektorii, takže je jasné, že zbývá probrat ještě mnoho písku před nalezením onoho kýženého zrníčka. Rád proto doporučuji práci RNDr. Tomáše Riegera k obhajobě.

Otázky:

1. Jsou známy i jiné případy využívání "helperových molekul" při přepínání životních strategií u bakterií (kromě v práci již zmiňovaného zástupce *M. xanthus* ze skupiny myxobakterií známých svým sociálním chováním)?
2. Jsou popsány nějaké mutantní kmeny baterií rodu *Serratia* (např. s poruchami sekrece) využitelné při odhalování mechanismu signalizace?
3. Skoušeli jste při testech přidání enzymů (např. proteáz) do kultivačního média, resp. do blízkosti kolonií ?

V Praze, 10. 9. 2017

Mgr. Martin Kuthan, PhD.  
Katedra genetiky a mikrobiologie, PŘF UK