

Posudek školitele

Posudek školitele disertační práce Ing. Radky Hrudíkové: „Vytipování a sledování exprese genů ovlivňujících syntézu kyseliny hyaluronové ve *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* pomocí technologie dna čipů a real time PCR“

Ing. Radka Hrudíková je studentkou 8. ročníku doktorandského studia na Fakultě chemické VUT v Brně. Předkládanou disertační práci vypracovala v laboratořích biotechnologické firmy Contipro a.s. v letech 2012–2016. Ing. Hrudíková je spoluautorkou dvou impaktovaných vědeckých publikací a podílela se na sedmi konferenčních příspěvcích, přičemž na dvou konferencích prezentovala své výsledky formou posterů. V současnosti je pod jejím spoluautorstvím podána celosvětová patentová přihláška. V průběhu svého doktorandského studia absolvovala několikaměsíční stáž Erasmus na Norské univerzitě vědy a technologie v Trondheimu. Působila také jako externí lektor na Mendelově univerzitě v Brně na Ústavu biochemie a organické chemie. V současnosti je zaměstnancem Ústavu molekulární genetiky AV ČR, toho času na mateřské dovolené.

Disertační práce byla zadána s cílem analyzovat genom a transkriptom producenta kyseliny hyaluronové *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* a získat tak základní informace pro další výzkum zaměřený na zvýšení její produkce. Studentka pro dosažení tohoto cíle provedla celogenomovou sekvenaci produkčního kmene *S. zooepidemicus* CO4A, který byl připravený tradičními metodami mutagenese a vykazuje zvýšenou produkci kyseliny hyaluronové. Získané sekvence autorka s využitím bioinformatických nástrojů sestavila do podoby anotované genomové sekvence. Dále provedla analýzu hledání variant (SNPs, INDELs), čímž identifikovala rozdíly na úrovni DNA u studovaného kmene CO4A a již osekvenovaného mateřského (referenčního) kmene ATCC35246.

V další fázi výzkumu se zaměřila na sledování celogenomové exprese pomocí DNA čipů. Experimenty vyžadovaly pečlivou přípravu od navržení sond, přes izolaci kvalitní RNA, její přepsání do cDNA, fluorescenční značení, až po hybridizaci vzorků na čipy. Ze získaných dat studentka komplexně popisuje expresi vybraných metabolických drah, které mohou mít souvislost s produkcí kyseliny hyaluronové. U vybraných genů, přímo i nepřímo zapojených v syntéze kyseliny hyaluronové, byla míra exprese dále sledována real-time PCR v několika časových bodech v průběhu kultivací. Značná pozornost byla věnována ověření spolehlivosti naměřených dat a výběru referenčního genu pro real-time PCR analýzu. V dalším pokusu byla exprese genů cíleně ovlivněna přidavkem *N*-acetylglukosaminu do kultivačního média. Studované geny byly porovnány s kontrolním experimentem bez přídatku *N*-acetylglukosaminu a výsledky analýzy byly diskutovány v kontextu současné literatury. Na základě získaných dat, se studentce podařilo mezi kmeny CO4A a ATCC35246 popsat několik zajímavých rozdílů na úrovni genomu a transkriptomu, které mohou mít vliv na zvýšenou produkci kyseliny hyaluronové u kmene CO4A.

Předkládaná práce je výsledkem pečlivého přístupu a zvládnutí několika moderních molekulárně-biologických metod. Během experimentů bylo potřebné některé postupy optimalizovat. Získané výsledky daly směřování dalšímu výzkumu v oblasti analýzy genové exprese kmene *S. zooepidemicus* a k lepšímu pochopení biologických mechanismů produkce kyseliny hyaluronové. Na základě uvedených skutečností předkládanou práci doporučuji k obhajobě.