Posudek školitele na disertační práci **Jany Prosecké:**

Physiological role of reactive oxygen species scavenging enzymes and methyl viologen resistence in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803

Předložená disertační práce Jany Prosecké se zabývá reakcí na oxidativní stres u modelového organismu sinice *Synechocystis* sp. PCC 6803. Zkoumat oxidativní stres u sinic je zajímavé ze dvou důvodů, jednak sinice jsou zodpovědné za kyslík na zemi a tedy vlastně i za oxidativní stres, jednak produkce kyslíku a jeho reaktivních forem i jejich detoxifikace jsou podobná u sinic a chloroplastů vyšších rostlin. Práce byla vytvořena na pracovišti Mikrobiologického ústavu AVČR.

Jana pracovala ve třech tématických oblastech výrazně metodicky odlišných. Vytvořila a charakterizovala několik delečních mutantů v genech kódujících enzymy detoxifikující aktivní formy kyslíku. Nikoli překvapivě se ukázalo, že systém detoxifikace mají sinice velmi dobře zvládnutý a zálohovaný a inaktivace jednoho či dvou enzymů je nevyvede z míry. V druhé časti se zabývala změnami exprese vybraných genů vlivem stresových faktorů, způsobujících generovaní reaktivních forem kyslíku a to u původního kmene i výše uvedených mutantů. Jana na pracovišti zaváděla metody měření exprese genů a to jak pomocí Northern blotu tak pomocí qPCR. Přes několik slepých uliček nakonec vybrala pro měření exprese qPCR a ve své době toho o této metodě věděla daleko víc než její školitel. Jana získala rozsáhlý soubor dat, který pak samostatně analyzovala a dávala do souvislostí. Časově nejnáročnější pak byla třetí část - lokalizace spontánních mutací vedoucích ke zvýšené resistenci k jednomu ze stresorů, k herbicidu methylviologenu - generátoru superoxidových iontů. K lokalizaci Jana využívala progresivní postup analýzy uspořádaných restrikčních fragmentů, která je v zásadě časově méně náročná než klasické vytváření knihoven. Jedna mutace byla lokalizována rychle, jednalo se o již popsanou mutaci ovlivňujíci expresi transportéru methylviologenu. Lokalizace druhé mutace dala Janě pořádně zabrat, ale její snaha byla nakonec korunována úspěchem. Mutace byla lokalizována do podjednotky ABC transportéru, mutovaný transportér efektivně eliminoval methylviologen v buňce. Tento transportér je přítomný ve všech sinicích a řadě dalších mikroorganismů a jeho nativní funkce není známa.

Po lidské stránce se s Janou spolupracovalo a spolupracuje výborně. V období svého studia procházela normálními obdobími „ups and downs", několikrát už se zdálo že práce nebude dokončena, závěrečným finišem ale prokázala svou velkou motivaci a dotáhla vše do konce. Za to bych ji chtěl poděkovat a tímto její práci doporučuji k obhajobě.

V Třeboni 21.3.2010

Martin Tichý