



Posudek na magisterskou práci Bc. Markéty Muroňové – Genetická analýza chlorofylid reduktázy u aerobních anoxygenních fototrofů

Magisterská práce Markéty Muroňové se zabývá využitím genu pro enzym chlorofylid reduktázu jako molekulárního markeru pro fylogenetickou analýzu aerobních anoxygenních fotoheterotrofních bakterií (dále AAP). Ekologický význam této skupiny fotosyntetických bakterií byl objeven poměrně nedávno a pokračující výzkum dokládá, jak překvapivě běžné jsou tyto bakterie nejenom v oceánech, ale i ve sladkovodních ekosystémech. Jedná se tedy jistě o velmi aktuální téma a je také třeba zdůraznit, že laboratoř Michala Koblížka patří ke klíčovým v této oblasti mikrobiologie.

Zadáním autorky bylo v prvním kroku navrhnout novou sadu PCR primerů pro specifickou amplifikaci genu pro chlorofylid reduktázu (*bchY*) a tu následně otestovat na izolovaných kmenech AAP bakterií. Logickým druhým cílem práce bylo využití *bchY* genu pro fylogenetickou analýzu společenstev AAP ve sladkovodních lokalitách.

Vlastní magisterská práce je klasicky členěna na literární přehled, metodiku, výsledky a diskusi. Literární úvod je čtivý a obsahuje potřebné informace umožňující orientaci v tématu. Kromě několika málo nepřesných frází snad moje jediná vážnější námitka souvisí s obrázkem 5. Ten by jistě lépe demonstroval problematičnost genu *pufM* pro fylogenetickou analýzu, pokud by zahrnoval alespoň zčásti stejné druhy jako obrázek 1. konstruovaný na základě 16S.

Popis metodiky je velmi detailně zpracovaný pro všechny fáze projektu, což bude jistě užitečné pro případné pokračovatele. Část práce věnovaná výsledkům se orientuje převážně na návrh primerů a získání sekvencí. Je třeba ocenit, že se autorce podařilo nalézt vhodné podmínky a primery pro amplifikaci poměrně dlouhé sekvence genu *bchY* (~1400 pb) ze směsných vzorků DNA. Jedná se jistě o velmi dobrý výsledek. Na druhou stranu jakoby již autorce chyběl čas či motivace tyto sekvence důkladně zpracovat. Práce obsahuje jeden fylogenetický strom zahrnující získané sekvence genu *bchY* z přírodní směsné DNA, který je vytvořený programem ClustalX. Vzhledem k cílům práce by si ovšem získaná data zasloužila hlubší fylogenetickou analýzu a možná i širší rozsah testovaných lokalit.

Závěrem chci zdůraznit, že se jedná o slušnou magisterskou práci, která splňuje potřebné požadavky a doporučuji tuto práci k obhajobě. Vzhledem ke skromnějšímu rozsahu a ne zcela dotažené analýze získaných sekvencí navrhuji známku chvalitebně.

K předložení práci mám tyto dotazy:

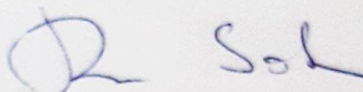
1. Někdy jsou připravené primery specifické pro skupinu AAP? Bude amplifikován gen *bchY* také u ostatních fotosyntetických bakterií a bylo by tak možné použít tento marker i u jiných skupin pro případné fylogenetické studie?

2. Jaký polymorfismus na úrovni aminokyselin v chlorofylid reduktáze jste detekovali u různých druhů AAP? Je tento polymorfismus dostatečný pro odlišení většiny testovaných druhů?

3. Bylo by možné využít gen *bchE* kódující Mg-protochlorofylid methylester cyklázu podobně jako genu *bchY* pro analýzu AAP?

Třeboň, 17.1. 2011

Ing. Roman Sobotka, PhD

Handwritten signature in blue ink, consisting of a stylized 'R' followed by 'Sob'.

☎ +420 384 340 434

☎_{Fax} +420 384 340 415