

INFORMAČNÍ LISTY



Obsah

5. edukačný workshop o univerzitnom vzdelávaní genetiky	2
Zápis ze schůze Valného shromáždění Genetické společnosti Gregora Mendela (dále jen GSGM), z.s.	4
Zápis ze schůze výboru GSGM, z.s. konané dne 6.10. 2022	6
Zápis ze schůze výboru GSGM, z.s. konané dne 23. 11. 2022	7
Zpráva o hospodaření společnosti GSGM, z.s., v letech 2019-2021 za Českou republiku	11
Správa o hospodáření společnosti GSGM, z.s. v letech 2019-2021 za Slovenskou republiku	12
Zpráva o činnosti výboru a aktivitách společnosti GSGM, z.s., za období 2019-2022, přednesená na Valném shromáždění společnosti konaném dne 6.10.2022 v rámci Genetické konference ve Slavkově u Brna	14
Konference GSGM 2022	19
Příspěvek vítěze Ceny GSGM (Jiří Pospíšil)	22
Neomendelovské mašinky	39
Cena dr. Ludmily Sedlárovej-Rabanovej 2022	43
Aktualita: KeyGene bude pořádat Mendelův den 2023 ve Wageningenu	48
Perličky ze školních lavic (D. Holá)	49

INFORMAČNÍ LISTY

číslo 58, březen 2023

Vydává Genetická společnost Gregora Mendela, z.s.

Redakční rada – Výbor GSGM

Výkonný redaktor – Mgr. Alexandr Sember, Ph.D.

Ústav živočišné fyziologie a genetiky AVČR, v.v.i.

Grafická úprava – prof. Ing. Tomáš Urban, Ph.D.

UMFGZ, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně

ISSN 1210-6267

5. edukačný workshop o univerzitnom vzdelávaní genetiky

Séria česko-slovenských edukačných workshopov pokračuje 5. ročníkom s názvom **Hodnotenie vysokoškolských kurzov**. Workshop sa uskutoční 30. mája 2023 (utorok) v Mendelovom múzeu v Brne. Účasť na seminári vyžaduje bezplatnú registráciu: <https://forms.office.com/e/feeW6LkD7L>

Cieľom workshopu je diskutovať o spôsoboch hodnotenia kurzov na českých a slovenských vysokých školách.

Predbežný program seminára 2023 (<https://fns.uniba.sk/index.php?id=33153>):

9:00 – 10:00 REGISTRÁCIA

10:00 – 10:15 Otvorenie seminára (Blanka Křížová, Pavel Lízal)

10:15 – 11:15 Hodnotenie kurzov na českých VŠ / *Moderátor*: Pavel Lízal (Masarykova univerzita, Brno)

[dĺžka prezentácií – max 15 min, na záver sekcie 15 min diskusia]

Pavel Lízal (Ústav experimentální biologie, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Brno): Zkušenosti s několika druhy zkoušení studentů z pohledu pedagoga na Přírodovědecké fakultě Masarykovy univerzity

Dana Holá (Katedra genetiky a mikrobiologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Praha): Různé varianty kontroly studia v oblastech genetiky a molekulární biologie na Přírodovědecké fakultě UK v Praze

Ondřej Šeda (Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. lékařská fakulta, Univerzita Karlova, Praha): Zkušenosti se systémem elektronického testování Rogo a ústním zkoušením v rámci výuky Biologie a Genetiky na 1. lékařské fakultě Univerzity Karlovy

11:15 – 11:30 - prestávka

11:30 – 12:30 Sekcia 2: Hodnotenie kurzov na slovenských VŠ / *Moderátorka*: Andrea Ševčovičová

[dĺžka prezentácií – max 15 min, na záver sekcie 15 min diskusia]

Eva Čellárová (Ústav biologických a ekologických vied, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Košice): Hodnotenia skúšky z genetiky a subdisciplín, a hodnotenie ŠZS Mgr. programu Genetika a molekulárna cytológia

Katarína Bruňáková, Linda Petijová (Ústav biologických a ekologických vied, Univerzita Pavla Jozefa Šafárika, Košice): Priebežné hodnotenie teoretických a praktických cvičení genetických predmetov na UPJŠ

Filip Červenák, Stanislav Kyzek (Katedra genetiky, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Komenského v Bratislave): Hodnotenie študentov pracujúcich v tíme: Odborný seminár Katedry genetiky na Přírodovědeckej fakulte UK

12:30 – 13:30 obedová prestávka (formou bufetu)

13:30 – 14:00 Valné zhromaždenie členov GSGM

14:00 – 15:00 Sekcia 3: Výzvy hodnotenia z pohľadu doktorandov a didaktikov/
Moderátorka: Eva Čellárová

[dĺžka prezentácií – max 15 min, na záver sekcie 15 min diskusia]

Martin Kubů (Katedra genetiky a mikrobiologie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Karlova, Praha): Zkoušky a zápočty z pohledu studenta na Přírodovědecké fakultě UK v Praze

Kamila Říhová (Masarykova univerzita, Brno): Doktorské versus magisterské studium na Masarykově univerzitě: Rozdíly v hodnocení kurzů

Soňa Nagyová, Zuzana Haláková (Katedra didaktiky prírodných vied, Prírodovedecká fakulta UK, Bratislava): Vybrané aspekty tvorby didaktických testov a testových položiek

15:00 – 15:15 – prestávka

15:15 – 16:15 Sekcia 4: Hodnotenie ako súčasť vzdelávacieho procesu –
Workshop I.* / Lektorky: Gabriela Pleschová, Lucia Hlavatá (Centrum pedagogickej podpory, Filozofická fakulta UK, Bratislava)

16:15 – 16:30 – prestávka

16:30 – 17:30 Sekcia 5: Hodnotenie ako súčasť vzdelávacieho procesu –
Workshop II. * / Lektorky: Gabriela Pleschová, Lucia Hlavatá (Centrum pedagogickej podpory, Filozofická fakulta UK, Bratislava)

*Anotácia workshopu:

Hodnotenie ako súčasť vzdelávacieho procesu je častokrát vnímané a redukované na jeho záverečnú, finálnu časť, ktorá nasleduje za výučbou v rámci harmonogramu semestra. Cieľom tohto workshopu je umožniť účastníkom a účastníčkam prediskutovať úlohu hodnotenia vo vzdelávaní študentov a študentiek, definovať jeho základné zložky, ako aj spôsob, ako využiť hodnotenie ako stimul učenia sa (z anglických termínov *assessment for learning*, *assessment as learning*). Súčasťou workshopu bude možnosť zdieľať vlastné skúsenosti a spoločne hľadať možnosti hodnotenia študentstva skupinovou aj individuálnou prácou, v snahe predchádzať podvádzaniu, či reagovať na nedostatočnú systematickú prípravu počas semestra.

Ako výsledok tohto workshopu budú účastníci a účastníčky vedieť identifikovať možnosti hodnotenia výsledkov štúdia počas procesu výučby aj na jeho záver, porovnať jednotlivé spôsoby hodnotenia, čo sa týka ich náročností a možných prínosov, ako aj posúdiť, ktoré možnosti by uplatnili v rámci vlastnej vyučovacej praxe vrátane vyučovania v menších i väčších skupinách. Workshop je vedený ako multiplikačné podujatie projektu Erasmus + Strategické partnerstvá HOSUED 2020-1-SK01-KA203-078299 (Designing Holistic and Sustainable Educational Development to Improve Student Learning): <https://hosued.euba.sk/>

17:30-18:00: Záverečná diskusia

Link na registráciu (neplatí sa žiadny registračný poplatok):
<https://forms.office.com/e/feeW6LkD7L>

Počas workshopu bude robená fotodokumentácia. Pokiaľ niekto nesúhlasí so zverejnením fotografií svojej osoby, je potrebné to oznámiť pri počas registrácie na mieste konania workshopu.

Zápis ze schůze Valného shromáždění GSGM, z.s.

Valné shromáždění GSGM se uskutečnilo 6.10.2022 ve Slavkově u Brna u příležitosti konání konference GSGM. Pozvánky na valné shromáždění s navrženým programem jednání obdrželi všichni členové spolku v termínu, který ukládají stanovy spolku.

Program Valného shromáždění:

1. zpráva o činnosti výboru a aktivitách GSGM, z.s., za období 2019-2022
2. zprávy o hospodaření společnosti v tomto období (za ČR a SR)
3. zpráva o členské základně GSGM a jejích změnách v tomto období
4. zpráva o výsledcích voleb do nového výboru společnosti
5. zpráva o výsledcích soutěže o Cenu GSGM za období 2019-2022.

Valné shromáždění bylo uskutečněno v souladu se stanovami a účastnilo se jej celkem 30 členů spolku z ČR i SR. Prezenční listina je uložena v sídle výboru spolku.

Předseda spolku prof. Doškař poděkoval všem přítomným za jejich účast a stručně je seznámil s hlavními body programu. Poté předal slovo tajemnici spolku doc. Holé, která přítomné seznámila se zprávou o činnosti výboru a aktivitách GSGM, z.s. za období 2019-2022, a v zastoupení revizorů účtů, dr. Maška a dr. Ševčovičové, i se zprávami o hospodaření spolku v tomto období. Všechny tři zprávy jsou součástí tohoto čísla Informačních listů. Přítomní členové Valného shromáždění všechny tři zprávy schválili.

Doc. Holá dále konstatovala, že během uplynulého období došlo ke změnám v členské základně společnosti (vyřazení některých členů, kteří dlouhodobě neplatili příspěvky a nezapojovali se do aktivit spolku, ukončení členství z důvodu úmrtí některých členů, ale také schválení několika nových uchazečů o členství ve společnosti). Uvedla dále, že volby do nového výboru spolku proběhly ve dnech 5.-20.5.2022 v souladu se stanovami, nově zvolený výbor má 11 členů, byli zvoleni i dva revizoři účtů (za ČR / SR). Předsedu výboru a zároveň předsedu spolku zvolí nový výbor na svém nejbližším zasedání, na kterém bude řešeno i obsazení dalších funkcí. Na závěr informovala o

organizaci a výsledcích soutěže o cenu GSGM za období 2019-2022, jejímž vítězem se stal Dr. Jiří Pospíšil z MbÚ AV ČR.

Vzhledem k tomu, že nikdo z členů GSGM nepředložil žádný další námět k projednání, schůze Valného shromáždění GSGM byla poté ukončena.

Prof. RNDr. Jiří Doškař, CSc.,
předseda GSGM

Doc. RNDr. Dana Holá, Ph.D.,
tajemnice GSGM

Zápis ze schůze výboru GSGM, z.s., konané dne 6.10. 2022

Přítomni: Čellárová, Doškař, Holá, Knoll, Lízal, Sember, Slaninová, Šeda, Ševčovičová, Šmarda, Tomáška, Urban

Odstupující předseda výboru prof. Doškař poděkoval všem přítomným za účast na dnešním zasedání i za dosavadní spolupráci v rámci výboru GSGM. Uvedl, že nově zvolený výbor spolku se ujme funkce počátkem r. 2023, do té doby je nutné zvolit nového předsedu, aby bylo možné včas zařídit všechny administrativní úkony spojené se změnou předsedy spolku. Bylo dohodnuto, že členové nového výboru se za tímto účelem sejdou na online zasedání v průběhu listopadu 2022.

Tajemnice spolku doc. Holá předložila členům výboru 3 nové přihlášky uchazečů o členství v GSGM. Výbor spolku všechny tři přihlášky schválil. Nově přijatí členové budou vyrozuměni e-mailem (zajistí doc. Holá).

Dr. Lízal jménem všech členů nově zvoleného výboru poděkoval prof. Doškařovi a prof. Šmardovi za jejich dlouholeté působení ve funkcích předsedy spolku (prof. Doškař) a hlavního redaktora Informačních listů (prof. Šmarda). Vyjádřil rovněž naději, že jejich pokračovatelé v novém výboru spolku dokáží udržet vysokou úroveň, kterou práce prof. Doškaře i prof. Šmardy v rámci výboru GSGM nastavila.

Zapsala D. Holá

Schválil J. Doškař

Zápis ze schůze výboru GSGM, z.s., konané dne 23. 11. 2022

Přítomni: Čellárová, Doškař, Holá, Knoll, Lízal, Sember, Slaninová, Šeda, Ševčíková, Ševčovičová, Šmarda, Tomáška

Schůze výboru probíhala on-line formou prostřednictvím platformy MS Teams. Prostřednictvím této platformy probíhalo i anonymní hlasování.

Schůzi zahájil odstupující předseda spolku prof. Jiří Doškař. Poděkoval všem přítomným za jejich účast na dnešním zasedání, za dosavadní působení ve výboru GSGM i za jejich účast na konferenci GSGM, která proběhla počátkem října 2022 ve Slavkově u Brna. Prof. Doškař průběh i organizaci konference zhodnotil pozitivně (oficiální zprávu o konferenci připraví prof. Ondřej Šeda a bude publikována v právě připravovaném čísle Informačních listů GSGM). Informoval, že v současnosti je dokončováno finanční vypořádání konference. Uvedl rovněž, že na konferenci proběhlo osobní předání jmenovacích dekretů třem čestným členům GSGM (prof. Zadražil, prof. Vlček, prof. Ferák); čtvrtý jmenovací dekret byl předán prof. Matalové v listopadu 2022.

Prof. Doškař dále informoval o tom, že i nadále by měla probíhat spolupráce GSGM s Mendelovým muzeem v Brně tak, jako tomu bylo až doposud.

Povinnost zřízení datové schránky, která vyplývá ze změny zákona, nevyžaduje žádné zvláštní úkony ze strany výboru GSGM. Podle informací prof. Doškaře stát datovou schránku během roku 2023 zřídí automaticky a předseda spolku o tom bude úředně vyrozuměn.

Doc. Holá a doc. Slaninová předložily členům výboru 5 nových přihlášek uchazečů o členství v GSGM (2 z ČR, 3 ze SR). Výbor všechny nové přihlášky odsouhlasil, uchazeči budou o přijetí za členy GSGM informováni e-mailem.

Prof. Šmarda seznámil přítomné se současným stavem přípravy nejbližšího čísla IL. Zatím má příspěvek od doc. Andrey Ševčovičové, očekává příspěvek od vítěze Ceny GSGM dr. Jiřího Pospíšila, dále budou IL obsahovat zprávu o činnosti výboru a

aktivitách spolku v uplynulém volební období + zprávy o hospodaření společnosti (dodá doc. Holá) a zprávu o konferenci GSGM (dodá prof. Šeda). Jakékoliv další příspěvky jsou vítány, deadline pro jejich zaslání je polovina prosince 2022.

Schůze výboru pokračovala volbou nového předsedy spolku. Na funkci předsedy výboru a zároveň předsedy spolku byl nominován Dr. Pavel Lízal z Masarykovy univerzity v Brně. Na jeho přání byli nejprve dotázáni oba bývalí místopředsedové GSGM (prof. Ondřej Šeda, prof. Lubomír Tomáška), zda by o tuto funkci také neměli zájem; oba však kandidaturu odmítli. Dr. Lízal poté poděkoval za projevenou důvěru a nominaci přijal. Přítomní členové výboru v následujícím tajném hlasování jednohlasně schválili volbu dr. Lízala předsedou GSGM.

Členové výboru poté předložili návrhy na kandidáty do dalších funkcí v rámci výboru GSGM. Na funkci tajemníka GSGM za ČR byla nominována doc. Dana Holá, která nominaci přijala a přítomní členové výboru v následujícím tajném hlasování jednohlasně schválili její jmenování do této funkce. Doc. Holá bude zároveň zodpovědná za přípravu zápisů ze schůzí výboru. Dále členové výboru hlasovali o místopředsedech spolku (za ČR a SR). Do těchto funkcí byli nominováni prof. Šeda (za ČR) a prof. Tomáška (za SR), oba nominaci přijali a v tajném hlasování členů výboru byli jednomyslně potvrzeni jako místopředsedové GSGM. Na funkci tajemníka spolku za Slovenskou republiku byla navržena doc. Slaninová, která nominaci přijala a v následném tajném hlasování byla v této funkci jednohlasně potvrzena. Další dvě funkce, o kterých výbor na svém zasedání rozhodoval, byly funkce hospodářů za českou a slovenskou část spolku. Nominováni byli prof. Aleš Knoll (za ČR) a doc. Slaninová (za SR). Oba s nominací souhlasili a členové výboru je v následném tajném hlasování v těchto funkcích potvrdili. Poté následovalo rozhodování o hlavním redaktorovi Informačních listů GSGM. Na tuto funkci byla nominována doc. Sabina Ševčíková, s nominací souhlasila a v tajném hlasování členů výboru byla jednomyslně ve funkci potvrzena.

Všechny nezbytné administrativní úkony spojené se změnou předsedy spolku v souladu se zákony provede dr. Lízal ve spolupráci s bývalým předsedou GSGM prof. Doškařem a hospodářem spolku prof. Knollem (v případě potřeby i s doc. Slaninovou jakožto hospodářkou spolku za SR), a to v průběhu prosince 2022.

Prof. Knoll informoval členy výboru o administrativě spojené s vedením finančního účtu GSGM u Komerční banky, dal ke zvážení i možnost přechodu k jiné bance. Tato otázka bude podrobněji diskutována na příštím zasedání výboru poté, co předseda a hospodář spolku zjistí další podrobnosti a možnosti.

Dále byl předložen návrh na správce webových stránek GSGM jakožto další možnou funkci v rámci výboru spolku. Dosud webové stránky spolku neoficiálně spravoval prof. Knoll v částečné spolupráci s prof. Urbanem. Prof. Knoll stručně seznámil přítomné se stávající situací a možnými řešeními, z nichž některá by vyžadovala placení platformy pro vedení webových stránek. Dr. Lízal konstatoval, že je skutečně třeba, aby správu webu měl na starosti oficiální správce (nebo i dva), ale tuto problematiku by bylo lepší dále podrobněji řešit na následující schůzi výboru GSGM, až bude k dispozici více informací, finanční analýzy apod. Všichni členové výboru byli vyzváni, aby se (např. na základě svých zkušeností z členství v jiných vědeckých či akademických spolcích) pokusili najít platformy, na kterých by bylo možné spolkový web zorganizovat a udržovat, a rovněž předběžně zjistili, jaké finanční nároky by s tím byly spojeny. Prof. Urban bude vyzván, aby na příští schůzi výbor seznámil se svojí koncepcí spolkového webu, kterou během svého minulého působení ve výboru GSGM připravil. Problematika webových stránek může být propojena i s rozhodnutím o případném přechodu na elektronickou formu Informačních listů (pro což se většina členů GSGM dotázaných v anketě zorganizované na jaře 2022 vyslovila). Tím by se mohly uvolnit finanční prostředky, které by šlo využít na placení platformy pro spolkový web. I tato otázka bude podrobněji projednávána až na následujícím zasedání výboru GSGM.

Další možná funkce v rámci výboru by mohla spočívat v propagaci GSGM mezi odbornou i laickou veřejností. K této tématice proběhla krátká diskuse, v níž zazněly náměty na možnosti propagace profesionální i amatérské (např. se zapojením studentů), byla zdůrazněna důležitost nejen propagace spolku jako takové, ale i celkové zvýšení aktivity GSGM. V této souvislosti byla otevřena otázka obnovení edukačních seminářů. Prof. Tomáška potvrdil, že tyto semináře by měly být obnoveny a měly by probíhat každoročně vždy na konci května, stejně jako v minulosti. Témata pro několik příštích eduseminářů již byla navržena na zasedáních minulého výboru, a je reálné, že na jaře 2023 by se nový eduseminář skutečně po delší covidové odmlce opět mohl konat. Prof. Tomáška byl předsedou výboru dr. Lízalem pověřen organizací

tohoto semináře, která by měla začít cca od ledna/února 2023. Výběr tématu bude definitivně uzavřen na nejbližším zasedání výboru a v mezičase bude mezi členy výboru probíhat o této problematice e-mailová komunikace.

Přídatný návrh týkající se propagace činnosti spolku předložil dr. Sember. Tento návrh se týkal zvýšení popularizace GSGM pro laickou veřejnost (možná odnož Informačních listů s jednoduššími texty, křížovkami apod.), dr. Lízal to doplnil ještě i o možnost rozšíření do sociálních sítí (Instagram apod.). Proběhla k tomu krátká diskuze (potřeba neustálého přidávání nových příspěvků na sociální sítě, možné problémy se sehnáním dobrých popularizačních příspěvků) a tento námět bude znovu předložen k další diskusi během následujícího zasedání výboru.

Dr. Lízal na závěr navrhl, aby se následující (prezenční) zasedání výboru GSGM konalo v Brně, ale zároveň aby se místa zasedání výboru v budoucnu střídala (tj. Praha, Bratislava, případně další univerzity). Všichni přítomní členové výboru s tímto návrhem souhlasili.

Po vyčerpání diskuzních příspěvků dr. Lízal schůzi výboru ukončil a poděkoval všem přítomným za účast.

Zapsala: D. Holá

Schválili J. Doškař, P. Lízal

Zpráva o hospodaření společnosti GSGM, z.s., v letech 2019-2021 za Českou republiku

Vypracoval: revizor účtů RNDr. Tomáš Mašek, Ph.D.

Na konci každého účetního období byla hospodářem společnosti, profesorem RNDr. Alešem Knollem, Ph.D., předložena zpráva o hospodaření GSSM za daný kalendářní rok včetně bankovních výpisů a účtenek za hotové. Konstatuji, že v období 2019-2021 byly všechny zprávy vypracovány bezchybně a všechny výdaje a příjmy řádně dokumentovány.

Z předložených zpráv plyne, že k datu 31.12.2018 měla společnost 35 436,04 Kč na účtu a 617,- Kč v pokladně, k 31.12.2021, tedy na konci tříletého sledovaného období, 39 641,54 Kč na účtu a 772,- Kč v pokladně. Celkově, byly příjmy hrazeny formou členských příspěvků ve výši 36 950,- Kč. Mezi největší pravidelné výdaje patřily tisk informačních listů (16 281,- Kč), pronájem spolkovny (14 701,5 Kč) a bankovní poplatky 1 062,- Kč.

Celkově se jeví hospodaření společnosti jako vyrovnané.

V Praze 19.9.2022

RNDr. Tomáš Mašek, Ph.D.

Správa o hospodárení spoločnosti GSGM v rokoch 2019-2021 za Slovenskú republiku

Činnosť GSGM v rokoch 2019/2021 prebiehala v súlade s účelom, na ktorý bola zriadená. Účet GSGM je zriadený v TATRA Banke.

Na konci každého účtovného obdobia bola hospodárkou spoločnosti, doc. Mgr. Miroslavou Slaninovou, PhD., predložená správa o hospodárení GSSM za dané obdobie vrátane bankových výpisov a výdavkových dokladov za platby v hotovosti. Konštatujem, že v období 2019 – 2021 boli všetky správy vypracované bezchybne a všetky výdaje a príjmy riadne zdokumentované.

Počiatkový stav k dátumu 31.12.2018: 1069,76 Eur,

z toho 403,67 Eur na bežnom účte a 666,09 Eur v pokladni.

Konečný stav k dátumu 31.12.2021: 1124,21 Eur,

z toho 429,32 na bežnom účte a 694,89 v pokladni.

Rozpis príjmov a výdavkov v rokoch 2019-20

A. Príjmy a výdavky realizované cez účet

Príjmy z členských poplatkov k 31. 12. 2020 224,00 EUR

Poplatky banke za vedenie účtu 168,75 EUR

B. Príjmy a výdavky realizované v hotovosti

Príjmy z členských poplatkov k 31.12. 2020 10,00 EUR

Výdavky-poštové obálky, príjmové a výdavkové doklady 16,20 EUR

Zostatok k 31. 12. 2020 1 118.81 EUR

Rozpis príjmov a výdavkov v roku 2021

A. Príjmy a výdavky realizované cez účet

Príjmy z členských poplatkov k 31. 12. 2021 65,00 EUR

Poplatky banke za vedenie účtu 94,60 EUR

B. Príjmy a výdavky realizované v hotovosti

Príjmy z členských poplatkov k 31.12. 2021 40,00 EUR

Správa o hospodárení spoločnosti GSGM v rokoch 2019-2021 za Slovenskú republiku

Výdavky-poštové obálky, príjmové a výdavkové doklady	5,00 EUR
Zostatok k 31. 12. 2021	1 124, 21 EUR

Celkovo sa hospodárenie spoločnosti javí ako vyrovnané.

V Bratislave 29.9.2022

doc. RNDr. Andrea Ševčovičová, PhD.

Zpráva o činnosti výboru a aktivitách společnosti GSGM, z.s., za období 2019-2022, přednesená na Valném shromáždění této společnosti, konaném dne 6.10.2022 v rámci Genetické konference ve Slavkově u Brna

Výbor GSGM pracoval v uplynulém volebním období v následujícím složení:

- **předseda** – J. Doškař
- **místopředsedové** – O. Šeda, L. Tomáška
- **tajemnice** – M. Kočová (*do konce r. 2021*), D. Holá (*od začátku r. 2022*)
- **hospodář za ČR** – A. Knoll
- **hospodářka za SR** – M. Slaninová
- **agenda členských příspěvků** – P. Lízal
- **hlavní redaktor Informačních listů** (*dále jen IL*) – J. Šmarda
- **redaktoři IL** – E. Čellárová (*od června 2019*), D. Holá (*do konce října 2021*)
- **správce webových stránek** – A. Knoll, T. Urban
- **organizace soutěže o Cenu GSGM pro mladé vědecké pracovníky** – A. Sember, K. Zelený

Revizorem účtů za ČR byl T. Mašek, revizorkou účtů za SR byla E. Čellárová (*do konce května 2019*) a poté A. Ševčovičová (*od června 2019; tato změna byla schválena Valným shromážděním GSGM dne 31.5.2019*).

Výbor GSGM se v r. 2019 sešel dvakrát, v souladu se zvyklostmi z předchozích let, a to prezenčně na Masarykově univerzitě v Brně (31.5.2019, 5.12.2019). Na jaře 2019 se rovněž konalo mimořádné Valné shromáždění GSGM, z.s., z důvodu projednání změn ve výboru spolku a na pozici revizora účtů (viz výše); zápis o tomto mimořádném Valném shromáždění byl zveřejněn v IL GSGM č. 53 (červen 2019).

Od r. 2020 ale do činnosti výboru (i celé společnosti) začala velmi negativně zasahovat pandemie SARS-CoV-2. Protiepidemická opatření, která s touto pandemií byla dlouhodobě spojena, zpočátku zcela znemožnila a později výrazně omezila možnosti prezenčních zasedání výboru i dalších prezenčních aktivit. Vzhledem k tomu, že v r. 2020 byla činnost GSGM v podstatě zcela utlumena a neobjevily se žádné body, které by výbor měl projednávat, výbor GSGM se sešel distanční formou až 5.5.2021 a plánované podzimní zasedání v r. 2021 (které opět nebylo možné uskutečnit

prezenčně vzhledem k tehdejšímu vývoji pandemické situace) bylo po vzájemné dohodě členů výboru přesunuto na 23.2.2022 (byla však stále nutná jeho distanční forma). Na konci r. 2021 došlo rovněž ke změně na pozici tajemníka spolku, kdy M. Kočová (vzhledem k ukončení své profesní aktivity) na základě rezignace podané na konci října 2021 ukončila členství ve výboru GSGM a tajemnické povinnosti se souhlasem členů stávajícího výboru převzala D. Holá (viz výše).

Až podzimní zasedání výboru v r. 2022 se po dlouhé době mohlo konat opět prezenčně, a to 6.10.2022, u příležitosti Genetické konference ve Slavkově u Brna. Lze jen doufat, že v budoucnu nebude nic bránit tomu, aby se zasedání výboru vrátila k původním zvyklostem (byť s případným efektivním využitím online nástrojů podle aktuální potřeby).

Na svých zasedáních v uplynulém funkčním období se výbor GSGM zabýval aktuálními úkoly vztahujícími se k činnosti spolku a jeho administraci. Opakovaně byly řešeny záležitosti týkající se členské základny GSGM, aktualizace členských databází z ČR a SR a platební morálky členů spolku. Ta bohužel není vždy zcela uspokojivá; je nutno opakovaně zveřejňovat výzvy k zaplacení členských příspěvků jak v IL, tak na webových stránkách společnosti, přesto se někteří členové spolku s touto povinností opožďují nebo ji neplní. V r. 2022 výbor GSGM provedl důkladnou revizi členských databází a kromě toho, že byly aktualizovány kontaktní údaje na všechny členy spolku, bylo v souladu se stanovami vyloučeno z GSGM 15 členů, kteří dlouhodobě neplatili členské příspěvky, ani se nijak nezapojovali do činnosti spolku. Kromě těchto 15 osob ukončili v období 2019-2022 své členství v GSGM na svou vlastní žádost ještě další dva původní členové a u čtyř dalších osob členství zaniklo z důvodu úmrtí. Na druhou stranu bylo přijato a výborem schváleno pět nových přihlášek. V současnosti má tedy GSGM 71 členů z ČR a 58 členů ze SR.

Bodem, který byl schválen již na konci funkčního období předešlého výboru GSGM, ale který se dlouho nepodařilo uskutečnit, bylo slavnostní předání diplomů nově jmenovaným čestným členům spolku (S. Zadražil, A. Matalová, D. Vlček, V. Ferák). I zde bohužel negativně zasáhla pandemická situace a k osobnímu předání diplomů tak došlo až na Genetické konferenci GSGM na podzim 2022.

Dalším bodem projednávaným postupně na několika zasedáních výboru byla příprava soutěže o Cenu GSGM pro mladé vědecké pracovníky za období 2019-2022.

Cena již tradičně byla finančně dotována firmou M.G.P., s.r.o. Zlín. Organizaci této soutěže měl na starosti A. Sember, komise posuzující podané přihlášky byla tvořena pěti členy výboru GSGM. Uzávěrka soutěže byla 31.3.2022. Do aktuálního kola soutěže bylo podáno celkem 6 přihlášek, vítězem se stal J. Pospíšil. Cena mu byla předána na Genetické konferenci v říjnu 2022 ve Slavkově u Brna, kde dr. Pospíšil také přednesl svoji přednášku na téma „Genová exprese a mezibuněčné komunikace u Gram-pozitivních bakterií“.

Před začátkem pandemie SARS-CoV-2 a poté v době, kdy se pandemická situace postupně zlepšovala, se členové výboru zabývali také plánováním a organizací Edukačních seminářů, které byly v rámci činnosti GSGM zavedeny již v předchozím funkčním období. V této oblasti se zvláště angažoval L. Tomáška. Čtvrtý a zatím poslední ročník tohoto semináře proběhl v r. 2019 a byl zaměřen na výuku genetiky na středních školách (podrobnější zpráva o tomto semináři je zveřejněna v IL č. 53 (červen 2019). Tématem pátého ročníku, původně plánovaného na jaro 2020, měly být nejprve zkušenosti s prověřováním znalostí a s hodnocením studentů genetiky na různých vysokých školách v ČR a SR, případně popularizace genetiky pro širší veřejnost. Poté, co uspořádání semináře v původně plánovaném termínu (i jeho přesun do r. 2021) znemožnila protiepidemická opatření, bylo toto téma nahrazeno aktuálnější problematikou zkušeností s distanční výukou (s tím, že původní témata zůstanou náplní pozdějších seminářů). Vzhledem k tomu, že v r. 2022 se konala Genetická konference GSGM, rozhodl se výbor Edukační seminář nepořádat ani v r. 2022 a je tak možné se na výše uvedená témata těšit v následujících letech.

I v případě Genetické konference způsobila pandemická situace její posunutí o rok oproti původně plánovanému termínu. S přípravou konference tak začal výbor GSGM v r. 2021 a její organizaci měli na starosti především brněňští členové GSGM z Masarykovy univerzity a Mendelovy univerzity v Brně. Konferenci se díky jejich aktivitám podařilo úspěšně uskutečnit v termínu 5.-7.10.2022; veškeré informace o konferenci byly opakovaně rozesílány členům spolku i zveřejněny na webových stránkách společnosti i na webových stránkách dalších institucí. Zhodnocení konference je součástí IL č. 58 (prosinec 2022).

Pravidelným bodem zasedání výboru bylo vždy také projednání a schválení obsahu IL GSGM, jejichž hlavní redaktor J. Šmarda ve spolupráci s některými dalšími členy výboru dokázal u všech vydaných čísel (53-58) vždy zajistit zajímavou

obsahovou/informační hodnotu i kvalitní grafickou úroveň. Kromě zápisů ze zasedání výboru GSGM, mimořádného Valného shromáždění, pravidelných přehledů o hospodaření spolku a některých dalších zpráv administrativního charakteru (vyhlášení soutěže o Cenu GSGM a vyhlášení vítěze této soutěže, výsledky voleb do výboru a do funkce revizorů účtů pro období 2023-2025, informace o Genetické konferenci GSGM 2022) obsahovala všechna čísla IL vydaná v tomto období krátké přehledové články českých i slovenských autorů z různých oblastí genetiky a molekulární biologie, a dále informace o konání různých výstav, konferencí nebo dalších akcí týkajících se zejména Johanna Gregora Mendela (v souvislosti s výročími, která v tomto období proběhla). Nejdůležitější z těchto informací byly navíc rozesílány členům GSGM i formou e-mailů. Téměř ve všech číslech IL byly dále zveřejněny i zajímavé postřehy, zamyšlení, komentáře a doporučení členů GSGM, případně jejich dalších kolegů, spojené s výukou a popularizací genetiky v ČR a SR (č. 53: EduWorkshop 4.0: Výuka genetiky na středních školách; č. 54: O zmysluplnom hodnotení študentov; č. 55: Zkušenosti s distanční výukou – zkušenosti pedagogů z ČR a SR; č. 55: Projekt Genetika na kolesách a možnosti popularizácie genetiky v pandemickom období; Nielen pandemické poznámky vysokoškolského učiteľa; č. 56: Editace genomů v praktickém cvičení pro studenty), na závěr vždy doplněné Perličkami ze školních lavic, pocházejícími z písemných zkoušek z genetiky na PřF UK v Praze.

Všechny zápisy ze zasedání výboru v období 2019-2022 byly zveřejněny v IL – č. 53 (červen 2019), 54 (prosinec 2019), 55 (červen 2021), 57 (červen 2022), 58 (prosinec 2022).

Ve dnech 5.-20.5.2022 proběhly volby do nového výboru GSGM, který zahájí svoji činnost od 1.1.2023. Hlasování proběhlo elektronickou formou s tím, že členové GSGM, kteří nemají e-mailovou adresu, mohli využít korespondenční způsob hlasování. Zpráva o těchto volbách je součástí IL č. 57 (červen 2022). Do nového výboru byli zvoleni (v pořadí podle počtu hlasů): L. Tomáška, D. Holá, A. Knoll, P. Lízal, O. Šeda, M. Slaninová, A. Ševčovičová, E. Čellárová, A. Sember, S. Ševčíková, T. Urban. Revizory účtů byli zvoleni za ČR T. Mašek a za SR K. Procházková. V souladu se stanovami nový výbor zvolí svého předsedu, místopředsedy, tajemníka, hospodáře a další funkcionáře tajným hlasováním na svém nejbližším zasedání. Na novém výboru také bude spočívat konečné rozhodnutí, zda i nadále pokračovat ve vydávání tištěné podoby IL nebo přejít plně na formu elektronickou (průzkum mezi členskou základnou

GSGM, uskutečněný souběžně s volbami do výboru, jednoznačně ukázal preferenci elektronické formy), případně další rozhodnutí týkající se administrace spolku, webových stránek apod. Zejména však bude jeho úkolem rozvinout činnost GSGM v nových směrech tak, aby byla zajímavá nejen pro členy této společnosti, ale i pro všechny, kdo mají o genetiku odborný i laický zájem.

Hospodaření GSGM bylo v období 2019-2022 pravidelně kontrolováno revizory účtů, kteří nezjistili žádné nedostatky. Ke 31.12.2021 činil zůstatek 40413,54 Kč v ČR části spolku a 1124,21 EUR v SR části spolku. Příjmovou stránku činily členské příspěvky, které byly ve výdajové části využity na poplatky bankám za vedení účtů, poplatky za tisk IL a poštovné spojené s jejich rozesláním, a některé další nezbytné administrativní poplatky. Zprávy o hospodaření spolku v uplynulém funkčním období, vypracované oběma revizory, jsou samostatnými přílohami této Zprávy.

Zprávu vypracovala tajemnice výboru D. Holá

Zprávu schválil předseda výboru a předseda spolku J. Doškař

Zprávu schválilo Valné shromáždění GSGM dne 6.10.2022

Konference GSGM 2022

V roce, kdy jsme si na řadě odborných, ale i obecněji laděných akcích připomínali dvousté výročí narození Johanna Gregora Mendela, došlo i na konferenci Genetické společnosti Gregora Mendela (GSGM), která se tentokrát konala pod záštitou děkana Přírodovědecké fakulty MU prof. Mgr. Tomáše Kašparovského, Ph.D. společně s XXIX. Genetickými dny. Slavnostní ráz celé konference dokreslovaly impozantní barokní interiéry i rozlehlý zámecký park slavkovského zámku, které se organizačnímu výboru vedenému prof. RNDr. Jiřím Doškařem, CSc. podařilo pro konání celé akce zajistit.

A právě v centrálním historickém sálu prof. Doškař, coby úřadující předseda GSGM, konferenci 5.10.2022 zahájil úvodním slovem, ve kterém přivítal účastníky a připomněl jak Mendelovo výročí, tak předchozí konference GSGM. Sestava plenárních přednášek prvního odpoledne pak zůstala tak či onak věrna hlavní osobnosti české i světové genetiky, ať už v první přednášce prof. RNDr. Jiřina Relichové, CSc. „K jeho výročí“, která navzdory názvu rozhodně nevyzněla jen jako laudatio, ale naopak přinesla řadu méně známých informací o J.G. Mendelovi. Následovalo detailní pojednání o interdisciplinárním výzkumu ostatků J.G. Mendela, které přednesla doc. RNDr. Eva Drozdová, CSc. a z historie do současnosti a snad i blízké budoucnosti využití genetické informace v predikci fenotypu posluchače zavedl RNDr. Pavel Lízal, Ph.D. Všechny přednášky vyvolaly bohatou diskusi, která se přelila i do další části večera a Rubensova sálu v rámci uvítacího přípitku a následného setkání všech účastníků.

Druhý, hlavní den konference přinesl pohledy na genetiku z řady úhlů. Hned v první ranní sekci zaměřené na nové trendy v genetice prezentoval Mgr. Pavel Tomančák, Ph.D. výzkum své skupiny v oblasti mechanochemických zpětných vazeb významných pro evoluci základních morfogenetických procesů. Význam Cdk13 pro ontogenezi na základě dat u knock-out myšího modelu informoval následně Mgr. Jiří Kohoutek, Ph.D. O tom, jak se obtiskla tvář genetiky do současné lékařské genetiky a diagnostiky, hovořili tři řečníci. Nejprve prof. MUDr. Milan Macek, DrSc. přiblížil problematiku vzácných onemocnění v České republice z pohledu legislativního a společenského, nastínil také existenci a význam evropských referenčních sítí pro vzácná onemocnění se zaměřením na participující česká pracoviště. RNDr. Vladimíra Vallová, Ph.D. pak provedla posluchače historií studia chromozomů od roku 1879, kdy

byl termín chromosom poprvé použit, až po dnešní dobu, kdy rozmanité techniky studia chromosomů zastřešujeme souhrnně jako cytogenomiku. Aplikace především molekulárně genetických metod v moderní medicínské diagnostice a terapii, směřující k personalizovanému přístupu, shrnul prof. RNDr. Ondřej Slabý, Ph.D.

Po obědové pauze se účastníků konference ujali průvodci a umožnili jim nahlédnout do ostatních prostor slavkovského zámku a poskytli fundovaný vhled do historie samotné budovy i kraje a s nimi svázaného rodu Kouniců.

Široký byl i záběr následující sekce, nazvané Genetika a evoluce. V jejím úvodu představil Mgr. Alexandr Sember, Ph.D. na evolučně mladých systémech pohlavních chromosomů ryb, jak se posunulo naše chápání evoluce těchto unikátních oblastí genomu. Poté doc. RNDr. Peter Pristaš, CSc. provedl exkurz do oblasti mikrobiologie, konkrétně do problematiky redukce genomů halofilních proteobakterií. Závěr sekce patřil výzkumu koevoluce telomerických repetitiv a telomery-vázajících proteinů u vybraných typů kvasinek, o kterém podrobně referoval Mgr. Filip Červenák, Ph.D.

Po přestávce se jednání rozdělilo do dvou sekcí, v rámci kterých zaznělo dvanáct kratších sdělení. Současně probíhala informačně bohatá posterová sekce, v rámci které se sešlo na čtyřicet plakátových sdělení pokrývajících široké spektrum genetické problematiky. Vrcholem společenského večera, který následoval po zasedání valného shromáždění GSGM, bylo slavnostní předání čestných členství GSGM ikonám české a slovenské genetiky, prof. RNDr. Stanislavu Zadražilovi, DrSc., doc. RNDr. Vladimírovi Ferákovi, CSc. a prof. RNDr. Danielu Vičkovi, DrSc.

Třetí a závěrečný den konference zahájily plenární přednášky pod jmenovkou „Varia z genetiky“. Prof. PharmDr. Alena Sumová, DSc. informovala o výzkumu cirkadiánního systému u savců během rané ontogeneze, jeho genetických aspektech a fyziologickém významu. Následovala přednáška Mgr. Stanislava Kyzeka, Ph.D., ve které popsal technologii nízkoteplotní plazmy použitelné nejen jako dekontaminační agens, ale také jako potenciálně perspektivní induktor adaptivní odpovědi semen. V posledním příspěvku této sekce byli posluchači seznámeni s prací kolektivu z Univerzity Pavola Jozefa Šafárika v Košicích, zaměřeného na bioinformatickou analýzu a identifikaci polyketidových genových klastrů v genomech endofytických hub, izolovaných z rostlin rodu *Hypericum* (třezalka). Po přestávce následovalo vyhlášení cen o nejlepší postery a jeden z hlavních slavnostních aktů konference GSGM, předání ceny GSGM, sponzorované společností M.G.P., spol. s.r.o.. Letošním

oceněným se stal Mgr. Jiří Pospíšil z Mikrobiologického ústavu AV ČR, v.v.i., který následně přednesl laureátskou přednášku „Genová exprese a mezibuněčná komunikace u Gram-pozitivních bakterií“. Následovalo ukončení konference a zájemci měli možnost navštívit slavkovská bojiště.

Lze shrnout, že letošní konference GSGM byla organizačně perfektně zvládnutá a po vědecké stránce mimořádně zdařilá, což bylo umožněno i díky podpoře řady sponzorů, hlavní dík a uznání tak patří všem přednášejícím a celému organizačnímu týmu.

Genová exprese a mezibuněčná komunikace u Gram-pozitivních bakterií

Jiří Pospíšil

Laboratoř Mikrobiální genetiky a genové exprese, Mikrobiologický ústav
AV ČR, v. v. i., Vídeňská 1083, 142 20 Praha 4

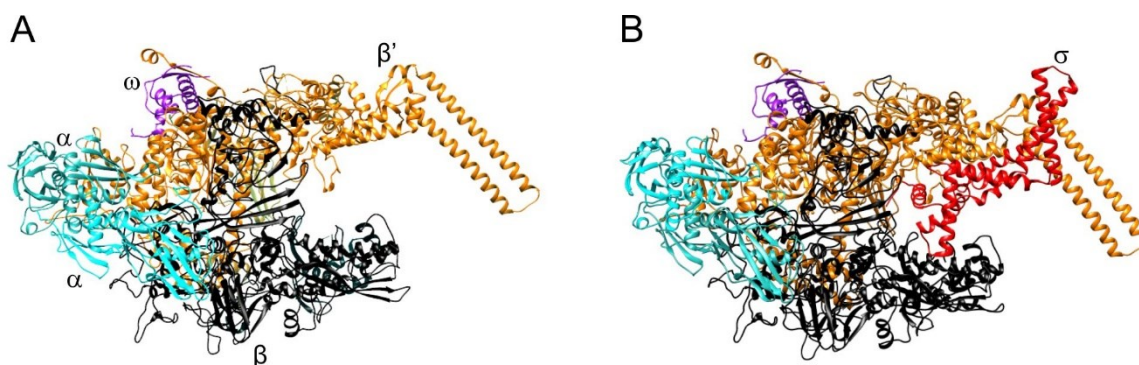
Abstrakt

Pro bakterie je zcela nezbytné přizpůsobit se podmínkám okolního prostředí a adaptovat se. Tato adaptace probíhá v rámci jednotlivých buněk za pomoci změn v genové expresi, nebo kolektivně – mezibuněčným přenášením signálů (molekul). První úroveň genové exprese je transkripce genů. Klíčovým enzymem transkripce je RNA polymeráza (RNAP). RNAP v buňce interaguje s širokou škálou transkripčních faktorů, které ovlivňují její funkci a mění genovou expresi. V naší laboratoři byl charakterizován a intenzivně zkoumán jeden z interakčních partnerů, protein HeID. První část tohoto článku bude popisovat základní principy bakteriální transkripce, enzym RNAP a protein HeID.

Druhá část článku se bude zabývat bakteriální mezibuněčnou komunikací jakožto procesem ovlivňující genovou expresi. Mezibuněčná komunikace probíhá na základě přenosu a interpretace signálu (molekul) mezi buňkami. Relativně nedávno navrženým mechanismem přenosu jsou tzv. nanotrubičky (NT) – membránové struktury, propojující buňky a sloužící jako kanály pro přenos DNA, RNA a proteinů. Náš výzkum, původně zaměřený na určení genetických determinant těchto struktur, popsal mechanismus vzniku NT a odkryl jejich biologickou roli.

Úvod do bakteriální transkripce

Přepis genetické informace z DNA do RNA je klíčovým nástrojem změny genové exprese. Tento proces je zprostředkován enzymem DNA-dependentní RNA polymerázou (RNAP). Jádrem bakteriální RNAP je složeno z několika podjednotek, $2\alpha\beta'\omega$, které jsou, vyjma podjednotky ω , esenciální. Zmíněné podjednotky vytváří typický tvar RNAP, připomínající krabí klepeto, a jsou vysoce konzervovány napříč bakteriemi. Z velké části jsou homologní také s podjednotkami RNAP u vyšších organismů [(Obr. 1A)(Kouba et al., 2019; Sekine et al., 2012)]. Pro zahájení transkripce je u bakterií potřeba další podjednotka, faktor sigma (σ). Faktory σ váží jádro RNAP a rozeznávají specifické vazebné sekvence na DNA, tzv. promotory. Bakterie mají zpravidla několik faktorů σ , z nichž jeden je vždy esenciální, tzv. *housekeeping* faktor σ , a několik dalších označených jako alternativní faktory σ . Každý z alternativních faktorů rozeznává odlišnou promotorovou sekvenci a reguluje tak specifický soubor genů, tzv. regulon (Chen et al., 2020). Alternativní faktory σ jsou důležité regulátory buněčné odpovědi na okolní stres, nebo specifických procesů jako je např. tvorba biofilmu a změna morfologie buňky (např. sporulace). Počty alternativních faktorů σ se výrazně liší mezi jednotlivými bakteriálními druhy [např.: *Bacillus subtilis* 18, *Streptomyces coelicolor* 64 (Sorenson and Darst, 2006; Chen et al., 2009; Ramaniuk et al., 2018; Burton et al., 2019)].

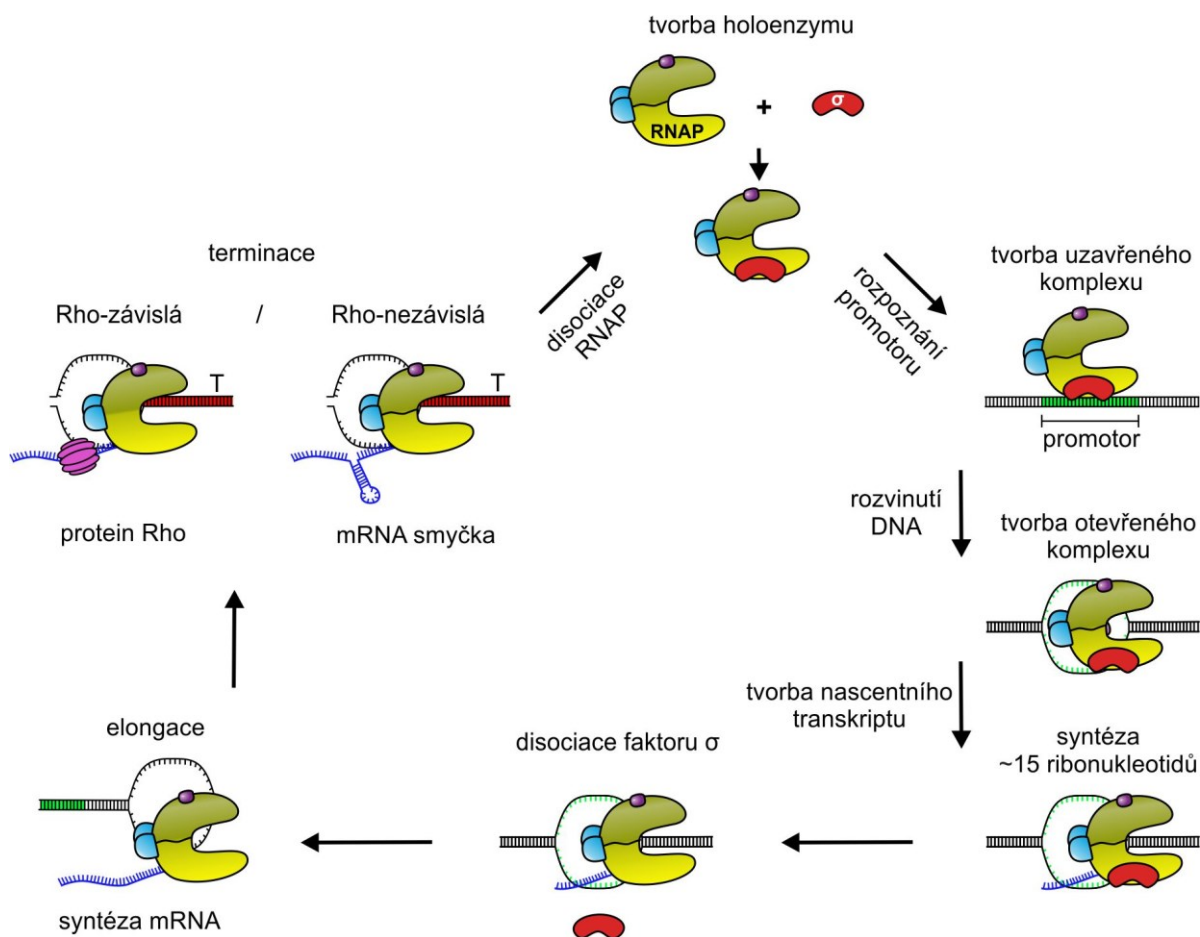


Obr. 1 Struktura jádra a holoenzymu RNA polymerázy (RNAP).

Struktura RNAP z *M. smegmatis* stanovená kryogenní elektronovou mikroskopií. **A)** Struktura jádra RNAP. Jádro RNAP tvoří ~400 kDa velký komplex. Na obrázku jsou znázorněny podjednotky β (černá) a β' (oranžová), tvořící katalytickou část enzymu ve tvaru krabího klepeta. Dimer podjednotek α (tyrkysová) se nachází na rozhraní mezi podjednotkami β a β' a zajišťuje především správné sbalení jádra RNAP, interakci s některými částmi promotoru na DNA nebo interakci s transkripčními faktory. Podjednotka ω (fialová) je nejmenší podjednotkou jádra RNAP (7.62 kDa), vážící se na podjednotku β' . Jedna z hlavních funkcí podjednotky ω je prevence agregace podjednotek β' během tvorby enzymového jádra v cytoplazmě. **B)** Struktura holoenzymu s navázaným faktorem σ^A . Jedná se o hlavní faktor σ u *M. smegmatis* (Ross *et al.*, 1993; Weiss *et al.*, 2017; Kouba *et al.*, 2019).

Po vazbě faktoru σ na RNAP vzniká tzv. holoenzym (**Obr. 1B**), který je schopný vázat promotorovou sekvenci na DNA, rozplést dvoušroubovici DNA a iniciovat transkripci. Zjednodušené schéma bakteriální transkripce je ztvárněno na **Obr. 2**.

Faktory σ nejsou zdaleka jediní interakční partneři RNAP. Během iniciace, elongace a terminace transkripce asociuje a disociuje s RNAP mnoho transkripčních regulátorů. Tyto regulátory jsou především proteiny, ale může se také jednat o malé RNA. V naší laboratoři byl poprvé charakterizován jeden z interakčních partnerů RNAP, protein HeID.



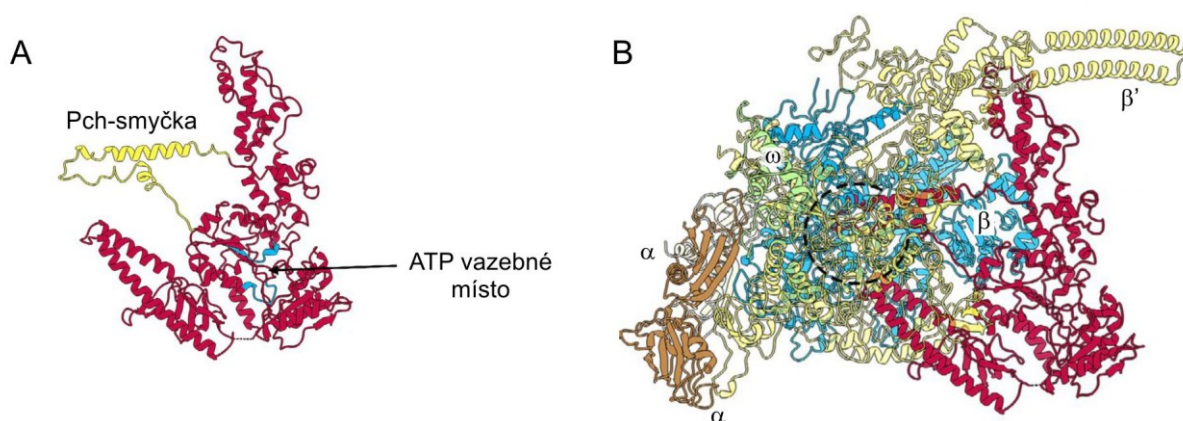
Obr. 2 Schéma bakteriální transkripce.

Iniciaci transkripce předchází sestavení holoenzymu (RNAP/faktor σ). Faktor σ následně rozpozná promotorovou sekvenci na DNA (zelená) a dochází k vazbě holoenzymu na promotor (vytváří se tzv. uzavřený komplex). Následuje reorganizace promotoru v komplexu s RNAP, rozpletení dvoušroubovice DNA a vytvoření tzv. otevřeného komplexu. Faktor σ opouští komplex krátce po transkripci několika nukleotidů (nascentní transkript), začíná fáze elongace a RNAP syntetizuje mRNA (modrá) podle sekvence templátového vlákna DNA. Po dosažení terminační sekvence (označeno jako T, červená) může být transkripce ukončena dvěma způsoby: (i) na mRNA se váže protein Rho (fialová), který posléze vytlačí RNAP z elongačního komplexu a uvolní mRNA, nebo (ii) terminátor obsahuje specifickou sekvenci, díky které se na syntetizované mRNA vytváří terminační smyčka, což následně vede k destabilizaci elongačního komplexu. V obou případech je RNAP uvolněna do cytosolu a celý transkripční proces může probíhat opakovaně (Brennan, Dombroski and Platt, 1987; Kainz and Roberts, 1992; Wilson and Von Hippel, 1995; de Hoon *et al.*, 2005; Hook-Barnard and Hinton, 2007; Liu *et al.*, 2017; Zuo *et al.*, 2020).

Protein HeID

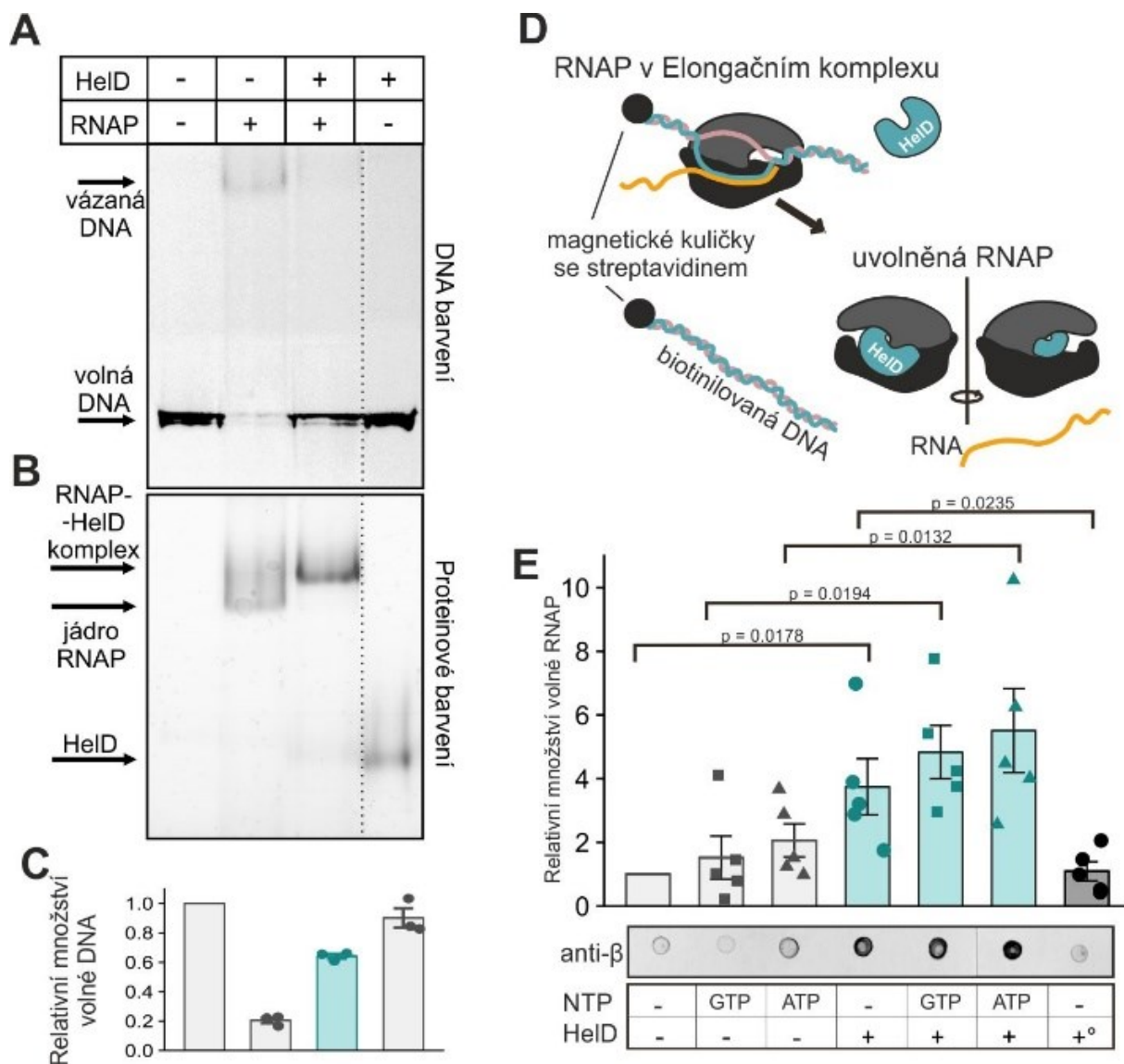
Protein HeID byl objeven v roce 2011 jako jeden z vazebných partnerů RNAP u *B. subtilis* a následně pojmenován na základě jeho homologie s helikázami SF1 [(*SuperFamily 1*)(Fairman-Williams, Guenther and Jankowsky, 2010; Delumeau et al., 2011)]. První charakterizace HeID proběhla v roce 2014, kdy byl poprvé popsán jeho pozitivní efekt na transkripci skrze recyklaci RNAP (Wiedermannová *et al.*, 2014). SAXS (*Small-angle X-ray scattering*) experimenty následně ukázaly, že je HeID schopen vázat a hydrolyzovat ATP, což je doprovázeno konformačními změnami v proteinu. Mechanismus, kterým HeID recykluje RNAP, a strukturní aspekty komplexu HeID/RNAP byly donedávna zcela neznámy.

V naší současné práci jsme určili strukturu komplexu RNAP/HeID z *Mycobacterium smegmatis* pomocí kryogenní elektronové mikroskopie (Cryo-EM). Struktura odhalila, že se HeID váže současně do oblasti primárního a sekundárního kanálu RNAP a rozevívá tak klepeta enzymu (**Obr. 3A–B**). Tato konformace a přítomnost HeID v katalytických místech RNAP je neslučitelná s transkripcí, ale konsistentní s předchozím pozorováním recyklační funkce HeID. Následné experimenty ukázaly, že HeID je schopen uvolňovat nefunkční RNAP ze zastavených elongačních komplexů, a také svojí vazbou bránit RNAP vázat se nespecificky na DNA (**Obr. 4A–E**). Způsob, kterým se HeID váže na RNAP, je zcela unikátní a v minulosti nebyl nalezen u žádného jiného transkripčního faktoru (Kouba *et al.*, 2020).



Obr. 3 Struktura HeID a komplexu RNAP/HeID

A) Struktura proteinu HeID z *M. smegmatis*. Červeně znázorněna ramena a torso proteinu. Žlutě znázorněná Pch-smyčka (*Primary channel loop*). Modře je obarvené vazebné místo pro ATP. **B)** RNAP v komplexu s proteinem HeID. Na obrázku jsou znázorněny podjednotky jádra RNAP: β (modrá), β' (žlutá), 2α (hnědá) a ω (zelená). Torso a ramena HeID rozevívají klepeta RNAP a váží se do blízkosti sekundárního kanálu. Pch-smyčka interaguje s aktivním místem RNAP [(přerušovaná čára)(Kouba *et al.*, 2020; Larsen *et al.*, 2021)].



Obr. 4 Analýza funkce HeID *in vitro*.

A) Test nespecifické vazby 300 bp dlouhé DNA na RNAP v ne/přítomnosti HeID na nativním gelu. Nukleofilní barvivo GelRed bylo použito pro vizualizaci DNA. **B)** Totožný gel jako v A, obarvený Commasie blue pro vizualizaci proteinů. Tečkovaná čára značí místo, kde byl gel virtuálně spojen. **C)** Kvantifikace volné DNA (nevázané na RNAP) z obr. A. Hodnoty byly normalizovány na hodnotu kontrolního vzorku bez přidání RNAP a HeID. **D)** Schéma experimentu, ukazujícího uvolnění RNAP z elongačního komplexu v ne/přítomnosti HeID a nukleotidů (ATP nebo GTP). Elongační komplex byl artificiálně vytvořen *in vitro* a obsahoval DNA, RNA a RNAP. **E)** Množství uvolněné RNAP bylo kvantifikováno pomocí western dot blotu ($p < 0.05$). Reprezentativní primární data jsou přiložena pod grafem. Symbol +° značí tepelně inaktivovaný protein HeID. Chybové úsečky v grafech značí standardní odchylku a jednotlivé symboly v rámci sloupců ukazují hodnoty naměřené v různých biologických opakováních. Zelené sloupce značí vzorky s přidáním HeID (Kouba *et al.*, 2020).

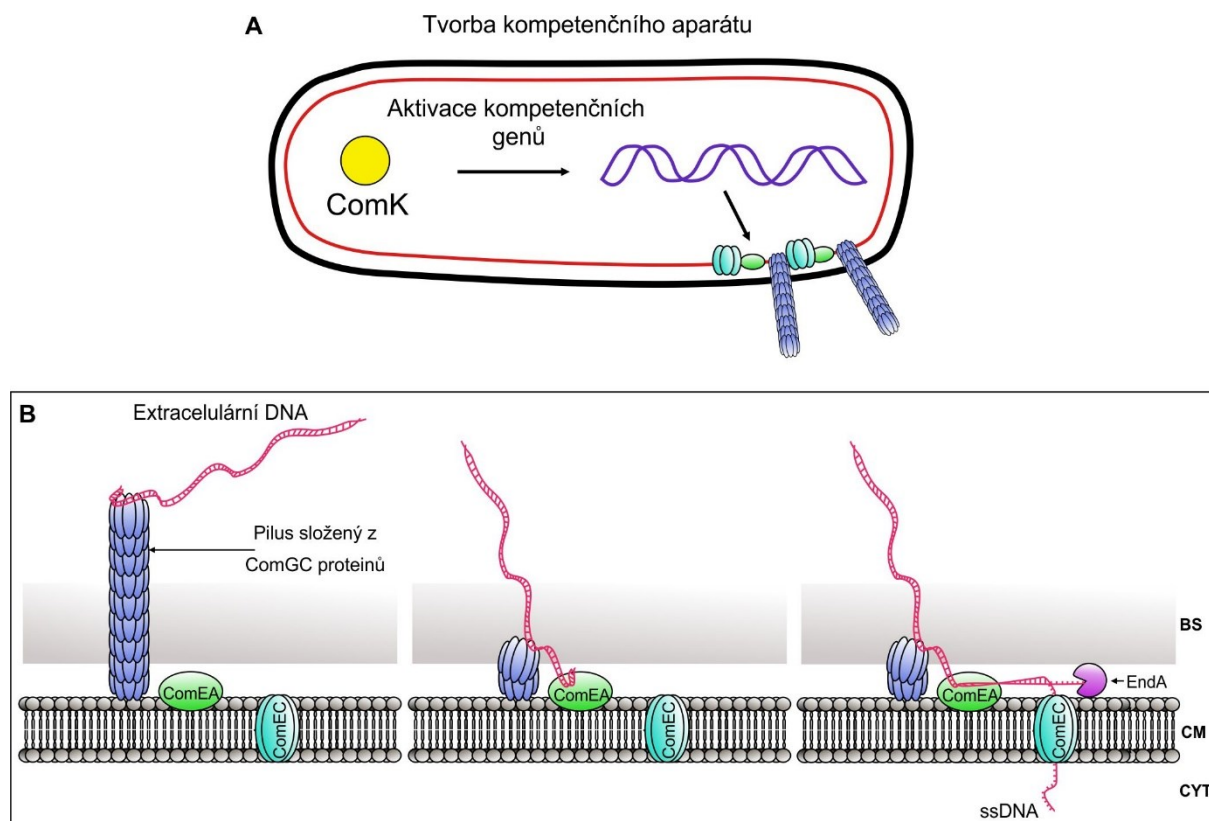
Od genové exprese k mezibuněčné komunikaci

Změny genové exprese vedou ke změnám v mezibuněčné komunikaci a naopak. Tyto dva procesy se vzájemně velmi úzce ovlivňují a určují jak vývoj jednotlivých buněk, tak i celé bakteriální populace. Mezibuněčná komunikace je zprostředkována vylučováním různých signálů (molekul). Těmito signály mohou být metabolity, feromony, proteiny, nebo samotná nukleová kyselina (DNA, RNA). Bakterie vyvinuly široké spektrum mechanismů, kterými jsou tyto molekuly přenášeny mezi buňkami. V zásadě lze tyto mechanismy rozdělit do dvou skupin: Mechanismy (i) NEzávislé nebo (ii) závislé na kontaktu producenta signálu s cílovou buňkou.

Mechanismy NEzávislé na kontaktu producenta signálu s cílovou buňkou

Jedním z nejlépe prostudovaných kontakt-nezávislým mechanismem komunikace je tzv. „*Quorum sensing*“ (QS). QS je využíván bakteriemi k regulaci expanze jejich populace. Zvyšující se hustotou bakteriální populace je zvyšováno množství feromonu produkovaného jednotlivými buňkami do prostředí. Tento feromon je následně vázán receptory na membránách jednotlivých buněk a to vede ke kaskádě fosforylací, aktivací transkripčních faktorů a finální změně genové exprese v rámci celé populace (Tortosa *et al.*, 2001; Mandic-Mulec *et al.*, 2003). Skrze QS mohou být, mimo jiné, aktivovány geny pro navození tzv. „přirozené kompetence“, což je jeden z dalších kontakt-nezávislých způsobů komunikace.

Za pomoci přirozené kompetence jsou některé Gram-pozitivní bakterie schopny přijmout neobalenou („nahou“) exogenní DNA z extracelulárního prostředí, např. z mrtvých, lyzovaných buněk, a následně jí inkorporovat do svých genomů. Tento proces je jednou z hlavních příčin vzniku nových rezistencí proti antibiotikům. Nejvíce je kompetence a kompetenční aparát prozkoumán u bakterií *B. subtilis* a *S. pneumoniae*. Kompetence je regulována hlavním transkripčním faktorem, ComK (van Sinderen *et al.*, 1995). ComK se váže ve formě dimeru na AT-bohaté boxy v oblasti promotorů a ohybem DNA stabilizuje uzavřený komplex RNAP/DNA. ComK je pro kompetenci naprosto esenciální a jeho delece vede k totální ztrátě přirozené kompetence (Hamoen *et al.*, 1995; Susanna *et al.*, 2004). Mezi geny, které ComK reguluje, se nachází geny pro tzv. pilus. Pilus je retraktilní proteinová struktura, ukotvená v cytoplazmatické membráně a procházející skrze buněčnou stěnu do okolního prostředí. Pilus je schopen vázat extracelulární DNA a retrakcí ji vtáhnout do vnitřní buňky, kde je následně dalšími mechanismy inkorporována do chromozomu bakterie. Schéma přirozené kompetence a kompetenčního aparátu je znázorněno na **Obr. 5** (Breitling and Dubnau, 1990; Chen, Provvedi and Dubnau, 2006; Muschiol *et al.*, 2015, 2017).



Obr. 5 Tvorba a mechanismus přirozené kompetence.

A) Přirozená kompetence je v buňce regulována transkripčním faktorem ComK. ComK se váže na AT-bohaté sekvence u promotorů genů, jejichž produkty tvoří např. retraktibilní pilus (ComGC) a aditivní proteiny (ComEA, ComEC) potřebné pro translokaci extracelulární DNA skrze buněčné obaly. **B)** Detailnější pohled na kompetenční aparát buňky. Extracelulární DNA je navázána na pilus tvořený proteiny ComGC. V dalším kroku je pilus retraktován a DNA vtažena skrze buněčnou stěnu (BS) k vnější straně cytoplazmatické membrány (CM), kde je navázána na protein ComEA. V konečné fázi je jedno z vláken DNA degradováno nukleázou EndA a druhé vlákno translokováno do cytosolu (CYT) skrze transportní protein ComEC (van Sinderen *et al.*, 1995; Susanna *et al.*, 2004; Chen, Proveddi and Dubnau, 2006; Muschiol *et al.*, 2015, 2017).

Mezi další možné mechanismy mezibuněčné komunikace, které nevyžadují přímý kontakt, můžeme zařadit membránové váčky (MV). MV jsou intenzivně zkoumány především u Gram-negativních bakterií, kde jsou tvořeny z vnější membrány, a tedy pojmenovány jako „Outer membrane vesicles“ (OMV). Obsahem OMV může být prakticky cokoliv [(proteiny, metabolity, DNA a RNA)(Altindis *et al.*, 2014; Bitto *et al.*, 2017; McCaig *et al.*, 2013)]. Tvorba OMV se zdá být celkem spontánní, nicméně k její indukcii dochází v případě stresů jako je zvýšená teplota, nebo reakce na antibiotikum [(např. na polymyxin C, nebo D-cykloserin)(de Jonge *et al.*, 2020; MacDonald & Kuehna, 2013)].

V případě Gram-pozitivních bakterií je výzkum MV znatelně slabší. Na rozdíl od Gram-negativních bakterií, Gram-pozitivní bakterie disponují masivní buněčnou stěnou, a to byl jeden z důvodů, proč byla tvorba MV v těchto organismech brána v podstatě za nemožnou. Některé současné publikace nicméně poukazují na existenci MV v Gram-pozitivních bakteriích jako je *Staphylococcus aureus*, *Bacillus anthracis* nebo *B. subtilis* (Lee *et al.*, 2009; Rivera *et al.*, 2010; Toyofuku *et al.*, 2017).

Mechanismy závislé na kontaktu producenta signálu s cílovou buňkou

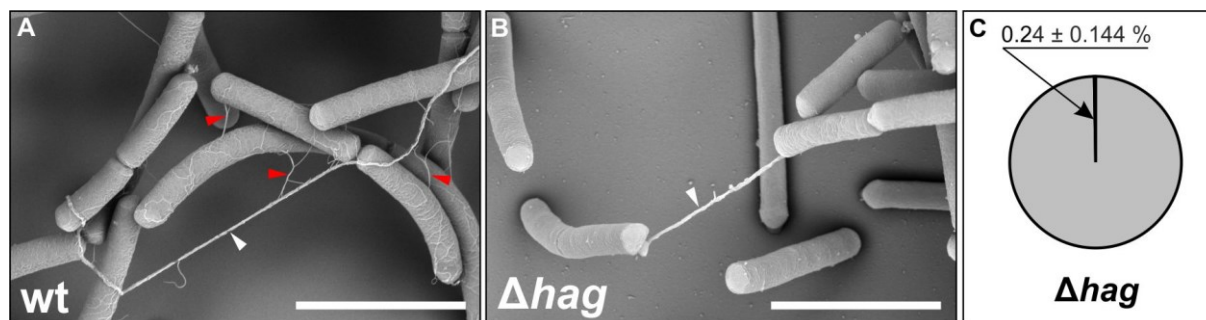
Na rozdíl od QS, přirozené kompetence a MV, vyžaduje tento způsob komunikace buňky v relativně blízké vzdálenosti. Vzhledem k tématu této práce zde bude kladen důraz především na dva typy této komunikace.

Prvním z nich je přímý transport cytoplazmatického materiálu mezi dvěma přilehlými buňkami. Způsob takové komunikace byl poprvé popsán u Gram-negativní bakterie *Myxococcus xanthus*, kde docházelo k transportu proteinů vnější membrány mezi sousedícími buňkami, a dokonce ke splynutí jejich vnějších membrán. Mechanismus splynutí vnější membrány nebo samotného transportu není přesně znám, nicméně bylo dokázáno, že důležitou roli hrají proteiny TraA a TraB. Tyto proteiny jsou homologní s flokuliny (proteiny na buněčném povrchu), které zajišťují buněčnou interakci u kvasinek (Wei, Pathak and Wall, 2011; Pathak *et al.*, 2012; Ducret *et al.*, 2013; Wei *et al.*, 2014). Podobný typ komunikace byl taktéž pozorován mezi *Desulfovibrio vulgaris* (Gram-pozitivní) a *Clostridium acetobutylicum* (Gram-negativní). V tomto případě docházelo k transportu metabolitů a proteinů, nicméně pouze během nutričního stresu (Benomar *et al.*, 2015). Přímý transport proteinů a RNA byl rovněž evidován mezi dvěma Gram-pozitivními bakteriemi, *Clostridium acetobutylicum* a *Clostridium ljungdahlii*. Pomocí transmisní elektronové mikroskopie (TEM) a elektronové tomografie byla mezi těmito druhy pozorována fúze buněčných obalů (Charubin *et al.*, 2020).

V roce 2011 byl, laboratoří doktorky Sigal Ben-Yehuda popsán nový způsob bakteriální kontakt-závislé komunikace u *B. subtilis*, bakteriální nanotrubičky (NT). NT byly popsány jako membránové kanály, spojující dvě nebo více buněk a sloužící pro transport cytoplazmatického aparátu – metabolitů, RNA, a dokonce DNA ve formě nekonjugativních plazmidů (plazmidy nepřenášené konjugací). Dále bylo publikováno, že transport molekul skrze NT může probíhat i mezi nepřibuznými bakteriemi, a dokonce mezi bakterií a eukaryotickou buňkou (Dubey and Ben-Yehuda, 2011; Dubey *et al.*, 2016; Stempeler *et al.*, 2017; Pal *et al.*, 2019). Nicméně mechanismus, kterým se NT tvoří, byl stále neznámý. Nedávné studie od téže laboratoře identifikovaly několik proteinů, které jsou důležité pro tvorbu NT. První z nich jsou proteiny bazálního tělesa bičíků, které byly určeny taktéž jako bazální těleso NT. Druhé proteiny jsou autolyziny (enzymy procesující buněčnou stěnu), které jsou důležité pro průchod NT skrze masivní buněčnou stěnu u *B. subtilis* (Bhattacharya *et al.*, 2019; Baidya, Rosenshine and Ben-Yehuda, 2020).

Tvorba a funkce bakteriálních NT

Výzkum naší laboratoře je zaměřen především na transkripční aparát buňky a genovou expresi. Objev bakteriálních NT naznačil, že by jimi mohly procházet např. i transkripční faktory (TF), a tak by produkce TF v jedné buňce mohla ovlivňovat expresi v buňce druhé. Naší motivací bylo proto prozkoumat fenomén NT ve větším detailu. Překvapivě hned na začátku projektu byla první výzva vůbec najít NT. V námi připravovaných mikroskopických preparátech jsme skenovací elektronovou mikroskopií (SEM), nebo fluorescenční mikroskopií identifikovali jen malé množství NT (~0.3 % populace tvořilo NT) (**Obr. 6**). To bohužel nesouhlasilo s počty NT v dříve publikovaných pracích (~70 % populace tvořilo NT).

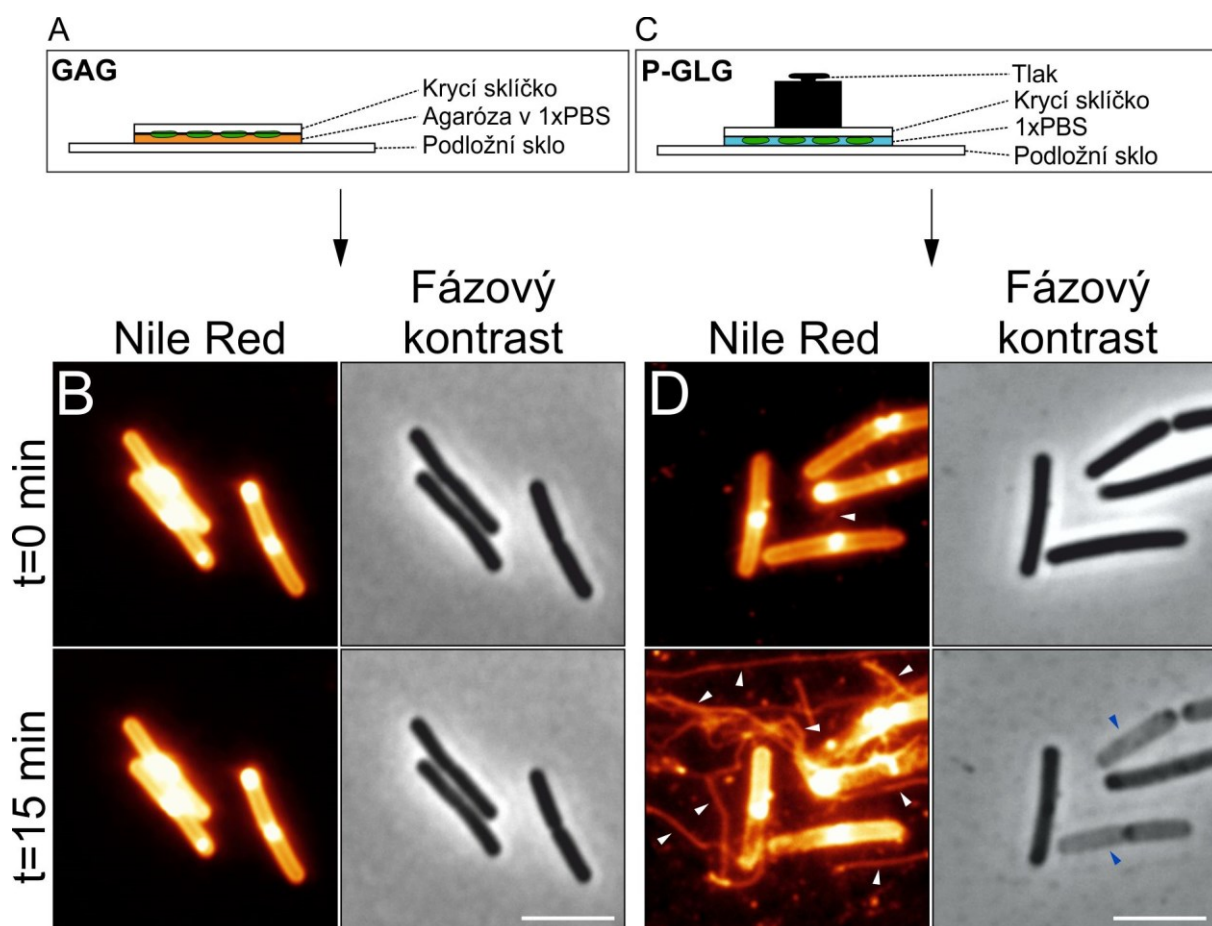


Obr. 6 Vizualizace nanotrubiček (NT) a jejich kvantifikace.

A) SEM; snímek divokého kmene (wt) *B. subtilis*. Na snímku vidíme tubulární struktury, lišící se v šířce (tenké – červené šipky, široké – bílá šipka). **B)** SEM; snímek mutantního kmene Δhag . Tento kmen není schopen tvořit bičíky z důvodu delece genu *hag* (kóduje flagelin-strukturální složku bičíku). Zde byly pozorovány pouze široké tubulární struktury, NT (bílá šipka). Tenké struktury (červené šipky) v obrázku A byly tedy bičíky **C)** Kvantifikace NT u kmene Δhag ze tří nezávislých, biologických pozorování. Měřítka = 5 μm (Pospíšil *et al.*, 2020).

I přes malý počet NT jsme jako další krok zvolili systematickou delecí alternativních faktorů σ . Jak je popsáno výše, každý faktor σ reguluje určitý regulon. Delecemi jednotlivých faktorů σ jsme tak chtěli získat mutanta/y, které nebudou NT tvořit a identifikovat tak konkrétní regulon, který je potřeba pro vznik NT. *B. subtilis* disponuje 18 faktory σ a v naší práci byly deletovány geny 11 z nich. Výsledky ukázaly, že delece faktoru σ^D vedla ke ztrátě NT, ale také bičíků, což bylo v souladu s předchozí prací, kde byla určena bazální tělesa bičíků také jako bazální tělesa NT (Bhattacharya *et al.*, 2019). Pomocí hmotnostní spektrometrie membránových frakcí (wt vs $\Delta\sigma^D$) jsme následně identifikovali proteiny LytE a LytF, autolyziny z regulonu σ^D jako proteiny, které jsou důležité pro tvorbu NT.

Nadále nás však mátl, že jsme nedokázali zopakovat publikované výsledky, kdy v populaci byly pozorovány NT u 70 % buněk. Z tohoto důvodu jsme začali systematicky porovnávat metody přípravy mikroskopických preparátů, které se běžně používají ve fluorescenční mikroskopii. Bakterie byly v těchto preparátech obarveny lipofilním barvivem Nile Red (pro vizualizaci buněčné membrány a NT) a pozorovány v čase. Zde se zaměřím pouze na klíčové výsledky. První byla použita metoda, kterou jsme nazvali jako GAG (Glass Agar Glass), což odráželo způsob přípravy preparátu. Metodou GAG jsme pozorovali pro nás obvyklé množství NT (~0.2 %) (**Obr 6A–B**). Jako další jsme použili metodu s názvem P-GLG (Pressure-Glass Liquid Glass), kdy je na krycí sklo vyvinut slabý tlak plastikovou pipetovací špičkou kvůli dosažení monovrstvy sledovaných bakterií. V tomto případě jsme se po 15 minutách konečně přiblížili publikovanému množství NT (~50 % populace tvořilo NT). Preparáty GAG a P-GLG byly paralelně pozorovány i pod fázovým kontrastem, který odhalil jasné zešednutí buněk, které tvořily NT (**Obr 7C–D**). Šedé buňky ve fázovém kontrastu jsou v literatuře popisovány jako „duchové“ a obvykle jsou spojovány se ztrátou cytoplazmatického materiálu (Lee *et al.*, 2011; Mohamed and Valvano, 2014). Duchové tvořící NT by tedy mohli být pod těžkým stresem nebo dokonce mrtví.

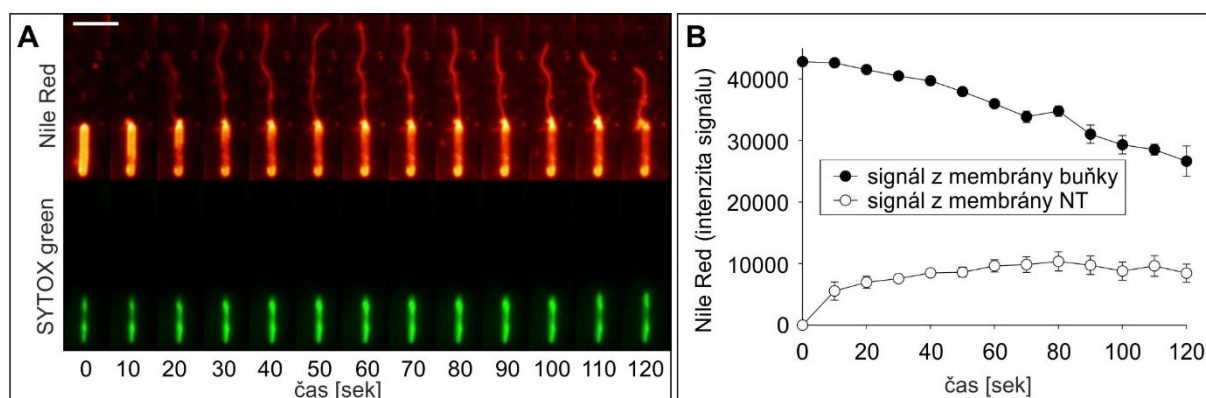


Obr. 7 Příprava preparátu ovlivňuje tvorbu NT.

A) Schéma přípravy preparátu metodou GAG. Na podložním skle se nachází tenká vrstva agarózy v 1x PBS. Na agar je kápnut vzorek bakterií v 1x PBS a překryt krycím sklíčkem. **B)** Výsledek preparátu, který byl připravený metodou GAG. Časoběrný snímek (0 a 15 minut) kmene wt *B. subtilis*, který byl obarven membránovou barvičkou Nile Red. Paralelně byly buňky pozorovány fázovým kontrastem. Nebyly pozorovány NT **C)** Schéma přípravy preparátu metodou P-GLG. Na podložní sklo je kápnut vzorek bakterií v 1xPBS a překryt krycím sklíčkem. Na krycí sklíčko je krátce (~10 s) vyvinut tlak špičkou z pipety **D)** Výsledek preparátu, který byl připravený metodou P-GLG. Časoběrný snímek (0 a 15 minut) kmene wt *B. subtilis*, který byl obarven membránovou barvičkou Nile Red. Paralelně byly buňky pozorovány fázovým kontrastem. Po uplynutí 15 minut tvoří ~50 % bakterií NT (bílé šipky). Ve fázovém kontrastu se objevují šedé buňky (duchové – modré šipky). Měřítko = 5 μm (Pospíšil *et al.*, 2020).

Následně jsme k buňkám v P-GLG preparátu přidali fluorofor SYTOX green (SG), který penetruje buňky s poškozenou membránou a váže se na jejich DNA. Díky zmíněným vlastnostem SG je tak možné určit přesný okamžik bakteriální smrti (Toyofuku *et al.*, 2017). Výsledky byly naprosto fascinující a ukázaly, že NT nejsou tvořeny za života bakterie, ale až *post-mortem* (**Obr. 8A**). Podmínka pro tvorbu NT tedy byla smrt buňky v P-GLG preparátu. Proces tvorby NT byl navíc velice rychlý (v řádu sekund) a pro tvorbu NT byla doslova kanibalizována cytoplazmatická membrána buňky (**Obr 8A–B**). Všechna data ukazovala na fakt, že tvorba NT je rychlý, spíše biofyzikální a posmrtný proces, a nikoli struktura „vědomě“ vytvořená bakterií. Jak je ale možné, že

delece autolyzinů *lytE* a *lytF* z regulonu faktoru σ^D vede k menším počtům NT? Autolyziny během bakteriálního růstu neustále procesují buněčnou stěnu, přičemž vznikají slabší místa v tomto obalu. V případě absence autolyzinů je buněčná stěna více kompaktní, tlustší a pevnější a bakterie se od sebe například ani neseperují po ukončení dělicího cyklu (Smith, Blackman and Foster, 2000; Chen *et al.*, 2009). Absence *LytE* a *LytF* může mít tedy za následek masivnější buněčnou stěnu s méně slabými místy a tudíž méně NT po aplikaci externího tlaku v P-GLG preparátech.

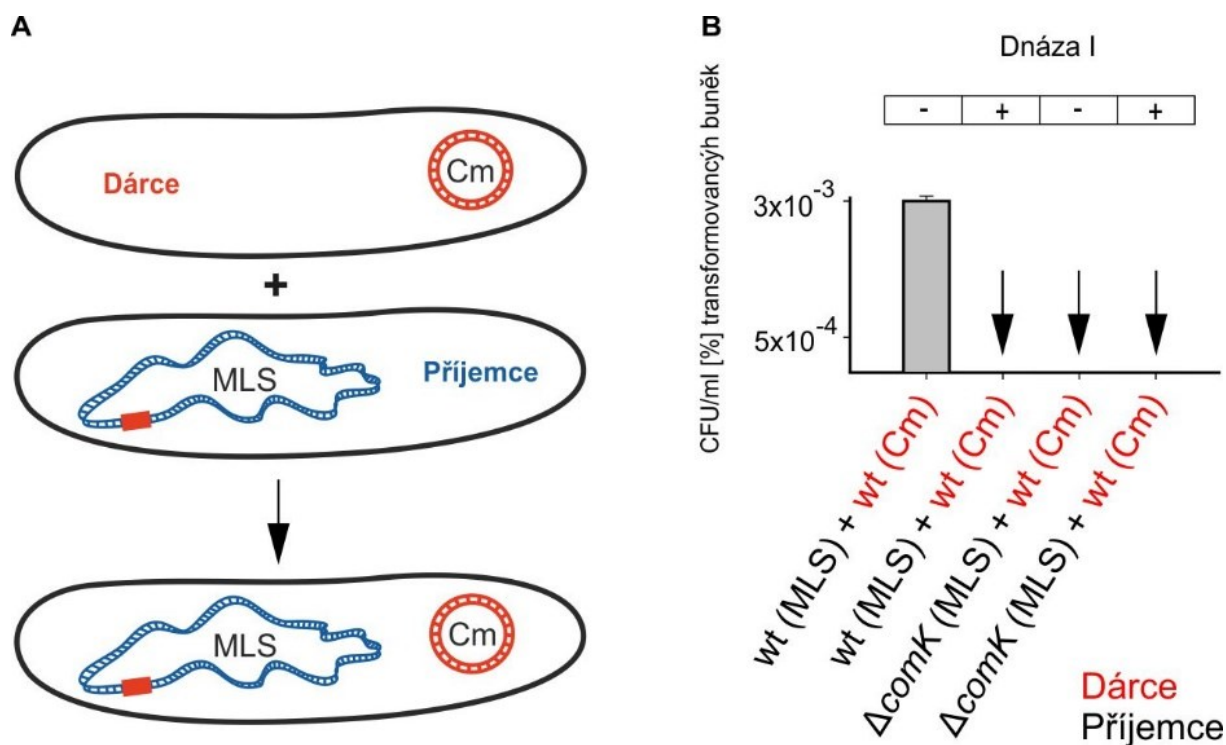


Obr. 8 NT se vytvoří po smrti bakterie

A) Preparát wt *B. subtilis* byl připraven metodou P-GLG (jako na obr. 7C-D). Snímky byly pořízeny v 10-ti sekundových intervalech. Horní panel ukazuje membránové barvení; spodní panel ukazuje barvení SYTOX green, indikující smrt buňky. Měřítko = 5 μ m. B) Kvantifikace Nile Red signálu z membrány buňky/NT u časosběrných snímků. Signál byl kvantifikován pomocí programu ImageJ z 5 různých buněk. Chybové úsečky značí \pm SEM (Pospíšil *et al.*, 2020).

Z tohoto důvodu jsme chtěli prozkoumat, zda i jiný stres na buněčnou stěnu, vyjma externího tlaku, povede ke zvýšené produkci NT. Do preparátu typu GAG, který za normálních podmínek neindukuje tvorbu trubiček, bylo přidáno antibiotikum ampicilin, inhibující syntézu buněčné stěny. Výsledkem byly mrtvé buňky a indukce tvorby NT a vezikulů. „Tlakové“ preparáty P-GLG byly následně aplikovány i na jiné bakteriální druhy (*Bacillus megaterium*, *Escherichia coli*, *Deinococcus radiodurans*), kde byla stejným způsobem indukována tvorba NT. Po celkové analýze a kvantifikaci našich vzorků jsme dospěli k závěru, že jsme nedetekovali buňku, která tvoří NT a není mrtvá.

V minulosti bylo publikováno, že se skrze NT přenáší DNA ve formě nekonjugativního plasmidu (Dubey and Ben-Yehuda, 2011; Bhattacharya *et al.*, 2019). Jako další byl tedy navržen experiment s použitím dvou bakteriálních mutant (dárce a příjemce plasmidu) stejného druhu (*B. subtilis*). Dárce obsahoval nekonjugativní plasmid nesoucí gen pro rezistenci na chloramfenikol (*cm*). Příjemce disponoval genem rezistence proti makrolidům (*mls*) na svém chromozomu (**Obr. 9A**). Gen pro *mls* rezistenci se tedy z příjemce do dárce nemohl přenést skrze NT. Jako kontrola byl tento systém zaveden do kmene s delecí hlavního regulátoru kompetence, ComK (Δ *comK*). Výsledky ukázaly, že transport nekonjugativního plasmidu je striktně závislý na kompetenčním aparátu buňky a nikoli na NT. Navíc přidání DNázy I do vzorků vedlo také k rozrušení transportu, což ukazuje na fakt, že přenášená DNA byla nechráněna (např. v MV nebo NT) a pocházela zřejmě z náhodně lyzovaných buněk v okolí (**Obr. 9B**).



Obr. 9 Přenos nekonjugativního plasmidu.

A) Schéma experimentu: Dárce obsahuje plazmid nesoucí gen pro rezistenci na chloramfenikol. Příjemce obsahuje na chromozomu gen rezistence proti makrolidům. Dárce a příjemce byli smícháni v poměru 1:1 a kultivováni společně 4 hodiny v LB médiu bez antibiotika. Následně byla přidána DNáza I do kultivace, abychom eliminovali nechráněnou DNA, pocházející z eliminovaných buněk, která by se mohla přenést přirozenou kompetencí buňky. Po uplynutí čtyř hodin byly buňky dekadicky ředěny a vysévány na misky, obsahující kombinace antibiotik (Cm, MLS). Další den byly počítány přeživší kolonie, schopné růst na kombinaci antibiotik. V těchto případech se jednalo o buňky, u kterých proběhl úspěšný transfer plazmidu. Výsledkem byla hodnota CFU/ml (*Colony Forming Unit/millilitr*) viz. následující graf **B)** Kvantifikace CFU/ml wt a $\Delta comK$ kmenů *B. subtilis*. Sloupec značí průměr ze tří biologických opakování; chybová úsečka značí \pm SEM; černé šipky značí hodnotu nula. (Ne)přidání DNázy I do jednotlivých vzorků je znázorněno znamínky – a + nad grafem (Pospíšil *et al.*, 2020).

Závěr a diskuze

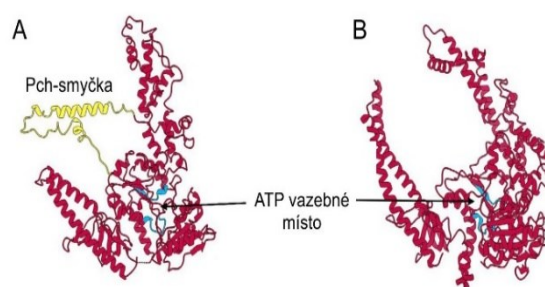
Recyklační protein HelD

V naší práci jsme jako první identifikovali komplex RNAP/HelD z *M. smegmatis* (Kouba *et al.*, 2020). Tato publikace byla paralelně publikována se dvěma dalšími pracemi ukazujícími komplex RNAP/HelD u *B. subtilis*. Již dříve byla u HelD ukázána jeho schopnost recyklovat RNAP. Recentní publikace toto potvrdily u *M. smegmatis* a *B. subtilis* (Newing *et al.*, 2020; Pei *et al.*, 2020). Porovnáním HelD z *M. smegmatis* a *B. subtilis* lze najít určité strukturální odlišnosti a lze je tedy řadit do dvou tříd (*B. subtilis* – třída 1; *M. smegmatis* – třída 2) (**Obr. 10**). HelD třídy 1 obsahuje delší levé rameno, kterým je možné fyzicky odstranit nukleovou kyselinu z aktivního místa na RNAP a uvolnit tak RNAP ze zaseklého komplexu na DNA (**Obr. 10B**). HelD třídy 2 disponuje kratším levým ramenem, které nedokáže odstranit nukleovou kyselinu z RNAP. Recyklační funkce je u HelD třídy 2 zajištěna PCh-smyčkou, vycházející z pravého ramene HelD (**Obr. 10A**). Struktury proteinů HelD třídy 1 a 2 byly následně použity pro modelování a predikce HelD u jiných bakteriálních druhů. Tímto přístupem bylo nalezeno mnoho zástupců napříč bakteriemi (včetně Gram-negativních), obsahujících např. dokonce až pět různých genů pro HelD zároveň.

Současné publikace ukázaly, že je PCh-smyčka důležitá nejen pro recyklaci RNAP, ale také pro odstranění antibiotika rifampicinu z RNAP u aktinomycet *Mycobacterium abscessus* a *Streptomyces venezuelae*. Aktinomycety zahrnují medicínsky významné, patogenní druhy bakterií jako např. *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae* aj. Pochopení mechanismu jejich resistance proti antibiotikům je tedy naprosto klíčové a HelD je jedním z těchto mechanismů (Hurst-Hess, Saxena and Ghosh, 2021; Surette *et al.*, 2022). Detailní popsání tohoto fenoménu je experimentální výzvou do budoucnosti.

NT jako posmrtný jev u bakterií

Nalezení NT u bakterie *B. subtilis* bylo považováno za jeden z nejvýznamnějších objevů mikrobiologie ve 21. století (Dubey and Ben-Yehuda, 2011). O to více bylo fascinující naše zjištění, že jsou NT „pouze“ projevem bakteriální smrti (Pospíšil *et al.*, 2020). NT u *B. subtilis* ale nebyly jediné tubulární, membránové struktury nalezené u bakterií. V některých případech byly tyto membránové útvary pojmenovány taktéž jako NT, ale někdy se výzkumníci uchýlili i k názvům jako nanodrátky, nanopody nebo trubičky z vnější membrány. V 99 % procentech případů souvisí vznik těchto struktur s různými stresy. Např. u *E. coli* vznikají NT v důsledku nedostatku živin (Pande *et al.*, 2015). U *Shewanella oneidensis* MR-1 byly objevené struktury nazvané jako



Obr. 10 Porovnání struktury HelD z *M. smegmatis* a *B. subtilis*.

A) HelD z *M. smegmatis* (třída 2) **B)** HelD z *B. subtilis* (třída 1). HelD z *M. smegmatis* obsahuje navíc PCh-smyčku, interagující s aktivním místem RNAP a odstraňující rifampicin z RNAP. Namísto toho HelD z *B. subtilis* disponuje delším levým ramenem, které zastává funkci PCh-smyčky (Kouba *et al.*, 2020; Newing *et al.*, 2020; Pei *et al.*, 2020; Larsen *et al.*, 2021).

Nanodrátky (ND). ND obsahují lipidy a proteiny z periplasmy a vznikají v hypoxických podmínkách (Pirbadian *et al.*, 2014; Barchinger *et al.*, 2016; Subramanian *et al.*, 2018). U Archeí a Gram-negativních bakterií byly popsány nanopody (NP). NP mají tvar vezikulárního řetízku uzavřeného v proteinovém pouzdře a jejich tvorba je indukována růstem na toxickém fenanthrenu. Autoři se domnívají, že NP napomáhají k degradaci tohoto polyaromatického uhlovodíku (Soler *et al.*, 2008; Shetty *et al.*, 2011; Shetty and Hickey, 2014). Další membránové struktury byly pojmenovány jako OMT (*outer membrane tubes*) a objeveny u Gram-negativních bakterií *M. xanthus* a *Francisella novidica*. OMT obsahují, stejně jako ND, proteiny periplazmy a vznikají, jako výše popsané struktury, za přítomnosti stresu. OMT v *M. xanthus* jsou masivně vytvářeny v hypoxických podmínkách. OMT u *Francisella novidica* vznikaly při hladovění, nebo po setkání bakterie s makrofágem (McCaig, Koller and Thanassi, 2013; Wei *et al.*, 2014; Sampath, McCaig and Thanassi, 2018).

Stres byl tedy všeobecně identifikován jako spouštěč tvorby membránových struktur u bakterií, s výjimkou NT u *B. subtilis*. Nutno ale poznamenat, že všechna data, týkající se NT u *B. subtilis*, pocházejí z jedné laboratoře. V naší práci jsme odhalili, že stres mechanický, nebo vyvolaný antibiotikem, indukuje tvorbu NT u *B. subtilis*. Detailní mikroskopickou analýzou jsme posléze zjistili, že NT jsou tvořeny pouze mrtvými buňkami a k jejich tvorbě je kanibalizována membrána buňky. Následně jsme vyvrátili fyziologickou funkci NT jako kanálů pro přenos nekojugativních plazmidů a ukázali jsme, že veškerý přenos DNA u *B. subtilis* probíhá pomocí přirozené kompetence, a ne skrze NT. Mechanismus tvorby membránových struktur jako jsou ND, NP nebo OMV, není doposud znám. Nicméně v jejich budoucím výzkumu bude zcela zásadní analýza životaschopnosti buněk. NT u *B. subtilis* nejsou jen jedním z projevů bakteriální smrti, ale také příkladem toho, jak může ovlivnit příprava mikroskopických preparátů výsledek pozorování.

Literatura

- Altindis, E., Fu, Y. and Mekalanos, J.J. (2014) 'Proteomic Analysis of *Vibrio cholerae* Outer Membrane Vesicles', *PNAS*, 111(15), pp. 1548–1556. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1403683111>.
- Baidya, A.K., Rosenshine, I. and Ben-Yehuda, S. (2020) 'Donor-delivered Cell Wall Hydrolases Facilitate Nanotube Penetration into Recipient Bacteria', *Nat Commun*, 11(1), p. 1938. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-15605-1>.
- Barchinger, S.E. *et al.* (2016) 'Regulation of Gene Expression in *Shewanella oneidensis* MR-1 During Electron Acceptor Limitation and Bacterial Nanowire Formation', *AEM*, 82(17), pp. 1615–1616. Available at: <https://doi.org/10.1128/AEM.01615-16>.
- Benomar, S. *et al.* (2015) 'Nutritional Stress Induces Exchange of Cell Material and Energetic Coupling Between Bacterial Species', *Nat Commun*, 6(1), p. 6283. Available at: <https://doi.org/10.1038/ncomms7283>.
- Bhattacharya, S. *et al.* (2019) 'A Ubiquitous Platform for Bacterial Nanotube Biogenesis', *Cell Rep.*, 27(2), pp. 334–342. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.02.055>.
- Bitto, N.J. *et al.* (2017) 'Bacterial Membrane Vesicles Transport their DNA Cargo into Host Cells', *Sci. Rep.*, 7(1), p. 7072. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07288-4>.
- Breitling, R. and Dubnau, D. (1990) 'A Membrane Protein with Similarity to N-methylphenylalanine Pilins is Essential for DNA Binding by Competent *Bacillus subtilis*', *J Bacteriol*, 172(3), pp. 1499–1508. Available at: <https://doi.org/10.1128/jb.172.3.1499-1508.1990>.
- Brennan, C.A., Dombroski, A.J. and Platt, T. (1987) 'Transcription Termination Factor Rho is an RNA-DNA Helicase', *Cell*, 48(6), pp. 945–952. Available at: [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(87\)90703-3](https://doi.org/10.1016/0092-8674(87)90703-3).
- Burton, A.T. *et al.* (2019) 'Transcriptional regulation and mechanism of sigN (ZpdN), a pBS32-encoded sigma factor in *Bacillus subtilis*', *mBio*, 10(5), pp. 1899–1919. Available at: <https://doi.org/10.1128/mBio.01899-19>.
- Charubin, K. *et al.* (2020) 'Interspecies Microbial Fusion and Large-Scale Exchange of Cytoplasmic Proteins and RNA in a Syntrophic *Clostridium* Coculture', *mBio*, 11(5), pp. 2020–2030. Available at: <https://doi.org/10.1128/mBio.02030-20>.

- Chen, I., Provvedi, R. and Dubnau, D. (2006) 'A Macromolecular Complex Formed by a Pilin-like Protein in Competent *Bacillus subtilis*', *J Biol Chem.*, 281(31), pp. 21720–21727. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.M604071200>.
- Chen, J. *et al.* (2020) 'Stepwise Promoter Melting by Bacterial RNA Polymerase', *Mol. Cell.*, 72(2), pp. 275–288. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2020.02.017>.
- Chen, R. *et al.* (2009) 'Role of the σ D-dependent Autolysins in *Bacillus subtilis* Population Heterogeneity', *J Bacteriol.*, 191(18), pp. 5775–5784. Available at: <https://doi.org/10.1128/JB.00521-09>.
- Delumeau, O. *et al.* (2011) 'The Dynamic Protein Partnership of RNA Polymerase in *Bacillus subtilis*', *Proteomics*, 11(15), pp. 2992–3001. Available at: <https://doi.org/10.1002/pmic.201000790>.
- Dubey, G.P. *et al.* (2016) 'Architecture and Characteristics of Bacterial Nanotubes', *Dev Cell.*, 36(4), pp. 453–461. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2016.01.013>.
- Dubey, G.P. and Ben-Yehuda, S. (2011) 'Intercellular Nanotubes Mediate Bacterial Communication', *Cell*, 144(4), pp. 590–600. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.01.015>.
- Ducret, A. *et al.* (2013) 'Direct Live Imaging of Cell-Cell Protein Transfer by Transient Outer Membrane Fusion in *Myxococcus xanthus*', *Elife*, 2, p. e00868. Available at: <https://doi.org/10.7554/eLife.00868>.
- Fairman-Williams, M.E., Guenther, U.P. and Jankowsky, E. (2010) 'SF1 and SF2 Helicases: Family Matters', *Curr Opin Struct Biol.*, pp. 313–324. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2010.03.011>.
- Hamoen, L.W. *et al.* (1995) 'A Small Gene, Designated comS, Located Within the Coding Region of the Fourth Amino Acid-activation Domain of SrfA, is Required for Competence Development in *Bacillus subtilis*', *Mol Microbiol*, 15(1), pp. 55–63. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1995.tb02220.x>.
- Hook-Barnard, I.G. and Hinton, D.M. (2007) 'Transcription Initiation by Mix and Match Elements: Flexibility for Polymerase Binding to Bacterial Promoters', *Gene Regul Syst Bio*, 1, pp. 275–293. Available at: <https://doi.org/10.1177/117762500700100020>.
- de Hoon, M.J.L. *et al.* (2005) 'Prediction of Transcriptional Terminators in *Bacillus subtilis* and Related Species', *PLoS Comput Biol.*, 1(3), p. e25. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.0010025>.
- Hurst-Hess, K., Saxena, A. and Ghosh, P. (2021) 'Mycobacterium Abscessus HelR Interacts with RNA Polymerase to Confer Intrinsic Rifamycin Resistance', *Mol Cell.*, 82(17), pp. 3166–6177. Available at: <https://doi.org/10.2139/ssrn.3850360>.
- de Jonge, E.F. *et al.* (2020) 'Heat Shock Enhances Outer-membrane Vesicle Release in *Bordetella* spp.', *Curr Res Microb Sci*, 2(100009). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2020.100009>.
- Kainz, M. and Roberts, J. (1992) 'Structure of Transcription Elongation Complexes In vivo', *Science*, 255(5046), pp. 838–841. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.1536008>.
- Kouba, T. *et al.* (2019) 'The Core and Holoenzyme Forms of RNA Polymerase from *Mycobacterium smegmatis*', *J Bacteriol.*, 201(4), pp. 583–618. Available at: <https://doi.org/10.1128/JB.00583-18>.
- Kouba, T. *et al.* (2020) 'Mycobacterial HelD is a Nucleic Acids-clearing Factor for RNA Polymerase', *Nat Commun*, 11(1), p. 6419. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20158-4>.
- Larsen, J.S. *et al.* (2021) 'Multiple Classes and Isoforms of the RNA Polymerase Recycling Motor Protein HelD', *MicrobiologyOpen*, 10(6), p. e1251. Available at: <https://doi.org/10.1002/mbo3.1251>.
- Lee, E.Y. *et al.* (2009) 'Gram-positive Bacteria Produce Membrane Vesicles: Proteomics-based Characterization of *Staphylococcus aureus*-derived Membrane Vesicles', *Proteomics*, 9(24), pp. 5425–5436. Available at: <https://doi.org/10.1002/pmic.200900338>.
- Lee, S. *et al.* (2011) 'Dynamic Analysis of Pathogen-infected Host Cells Using Quantitative Phase Microscopy', *J Biomed Opt.*, 16(3), p. e036004. Available at: <https://doi.org/10.1117/1.3548882>.
- Liu, B. *et al.* (2017) 'Structural Basis of Bacterial Transcription Activation', *Science*, 358(6365), pp. 947–951.
- MacDonald, I.A. and Kuehna, M.J. (2013) 'Stress-induced Outer Membrane Vesicle Production by *Pseudomonas aeruginosa*', *J Bacteriol.*, 195(13), pp. 2971–2981. Available at: <https://doi.org/10.1128/JB.02267-12>.
- Mandic-Mulec, I. *et al.* (2003) 'Variability of the Quorum Sensing System in Natural Isolates of *Bacillus* sp', *FTB*, pp. 23–28.
- McCaig, W.D., Koller, A. and Thanassi, D.G. (2013) 'Production of Outer Membrane Vesicles and Outer Membrane Tubes by *Francisella novicida*', *J Bacteriol.*, 195(6), pp. 1120–1132. Available at: <https://doi.org/10.1128/JB.02007-12>.

- Mohamed, Y.F. and Valvano, M.A. (2014) 'A Burkholderia cenocepacia MurJ (MviN) Homolog is Essential for Cell Wall Peptidoglycan Synthesis and Bacterial Viability', *Glycobiology*, 24(6), pp. 564–576. Available at: <https://doi.org/10.1093/glycob/cwu025>.
- Muschiol, S. *et al.* (2015) 'Uptake of Extracellular DNA: Competence Induced Pili in Natural Transformation of *Streptococcus pneumoniae*', *BioEssays*, 37(4), pp. 426–435. Available at: <https://doi.org/10.1002/bies.201400125>.
- Muschiol, S. *et al.* (2017) 'Structure of the Competence Pilus Major Pilin ComGC in *Streptococcus pneumoniae*', *J Biol Chem*, 292(34), pp. 14134–14146. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.787671>.
- Newing, T.P. *et al.* (2020) 'Molecular Basis for RNA Polymerase-dependent Transcription Complex Recycling by the Helicase-like Motor Protein HelD', *Nat Commun*, 11(1), p. 6420. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-20157-5>.
- Pal, R.R. *et al.* (2019) 'Pathogenic *E. coli* Extracts Nutrients from Infected Host Cells Utilizing Injectisome Components', *Cell*, 177(3), pp. 683–696. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.02.022>.
- Pande, S. *et al.* (2015) 'Metabolic Cross-feeding via Intercellular Nanotubes Among Bacteria', *Nat Commun*, 6(1), p. 6238. Available at: <https://doi.org/10.1038/ncomms7238>.
- Pathak, D.T. *et al.* (2012) 'Cell Contact-dependent Outer Membrane Exchange in Myxobacteria: Genetic Determinants and Mechanism', *PLoS Genet*, 8(4), p. e1002626. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002626>.
- Pei, H.-H. *et al.* (2020) 'The δ Subunit and NTPase HelD Institute a Two-pronged Mechanism for RNA Polymerase Recycling', *Nat Commun*, 11(1), p. 6418. Available at: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-40617/v1>.
- Pirbadian, S. *et al.* (2014) 'Shewanella oneidensis MR-1 Nanowires are Outer Membrane and Periplasmic Extensions of the Extracellular Electron Transport Components', *PNAS*, 111(35), pp. 12883–12888. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1410551111>.
- Pospíšil, J. *et al.* (2020) 'Bacterial Nanotubes as a Manifestation of Cell Death', *Nat Commun*, 11(1), p. 4963. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18800-2>.
- Ramaniuk, O. *et al.* (2018) ' σ I from *Bacillus subtilis*: Impact on Gene Expression and Characterization of σ I-Dependent Transcription That Requires', *Journal of bacteriology*, 200(17), pp. 1–15.
- Rivera, J. *et al.* (2010) '*Bacillus anthracis* Produces Membrane-Derived Vesicles Containing Biologically Active Toxins', *PNAS*, 107(44), pp. 19002–19007. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1008843107>.
- Ross, W. *et al.* (1993) 'A Third Recognition Element in Bacterial Promoters: DNA Binding by the α Subunit of RNA Polymerase', *Science*, 262(5138), pp. 1407–1413. Available at: <https://doi.org/10.1126/science.8248780>.
- Sampath, V., McCaig, W.D. and Thanassi, D.G. (2018) 'Amino Acid Deprivation and Central Carbon Metabolism Regulate the Production of Outer Membrane Vesicles and Tubes by *Francisella*', *Mol Microbiol*, 107(4), pp. 523–541. Available at: <https://doi.org/10.1111/mmi.13897>.
- Sekine, S.I., Tagami, S. and Yokoyama, S. (2012) 'Structural Basis of Transcription by Bacterial and Eukaryotic RNA Polymerases', *Curr Opin Struct Biol*, pp. 110–118. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2011.11.006>.
- Shetty, A. *et al.* (2011) 'Nanopods: A New Bacterial Structure and Mechanism for Deployment of Outer Membrane Vesicles', *PLoS ONE*, 6(6), p. e20725. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020725>.
- Shetty, A. and Hickey, W.J. (2014) 'Effects of Outer Membrane Vesicle Formation, Surface-layer Production and Nanopod Development on the Metabolism of Phenanthrene by *Delftia acidovorans* Cs1-4', *PLoS ONE*, 9(3), p. e92143. Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092143>.
- van Sinderen, D. *et al.* (1995) 'comK Encodes the Competence Transcription Factor, the Key Regulatory Protein for Competence Development in *Bacillus subtilis*', *Mol Microbiol*, 15(3), pp. 455–462. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1995.tb02259.x>.
- Smith, T.J., Blackman, S.A. and Foster, S.J. (2000) 'Autolysins of *Bacillus subtilis*: Multiple Enzymes with Multiple Functions', *Microbiology*, pp. 249–262. Available at: <https://doi.org/10.1099/00221287-146-2-249>.
- Soler, N. *et al.* (2008) 'Virus-like Vesicles and Extracellular DNA Produced by Hyperthermophilic Archaea of the Order Thermococcales', *Res Microbiol*, 159(5), pp. 390–399. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2008.04.015>.
- Sorenson, M.K. and Darst, S.A. (2006) 'Disulfide Cross-linking Indicates that FlgM-bound and free σ^{28} Adopt Similar Conformations', *PNAS*, 103(45), pp. 16722–16727. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.0606482103>.

- Stempler, O. *et al.* (2017) 'Interspecies Nutrient Extraction and Toxin Delivery Between Bacteria', *Nat Commun*, 8(1), p. 315. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00344-7>.
- Subramanian, P. *et al.* (2018) 'Ultrastructure of *Shewanella oneidensis* MR-1 Nanowires Revealed by Electron Cryotomography', *PNAS*, 115(14), pp. E3246–E3255. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.1718810115>.
- Surette, M.D. *et al.* (2022) 'HelR is a Helicase-like Protein that Protects RNA Polymerase from Rifamycin Antibiotics', *Molecular Cell*, 82(17), pp. 3151–3165. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2022.06.019>.
- Susanna, K.A. *et al.* (2004) 'Mechanism of Transcription Activation at the comG Promoter by the Competence Transcription Factor ComK of *Bacillus subtilis*', *J Bacteriol*, 186(4), pp. 1120–1128. Available at: <https://doi.org/10.1128/JB.186.4.1120-1128.2004>.
- Tortosa, P. *et al.* (2001) 'Specificity and Genetic Polymorphism of the *Bacillus* Competence Quorum-sensing System', *J Bacteriol*, 183(2), pp. 451–460. Available at: <https://doi.org/10.1128/JB.183.2.451-460.2001>.
- Toyofuku, M. *et al.* (2017) 'Prophage-triggered Membrane Vesicle Formation through Peptidoglycan Damage in *Bacillus subtilis*', *Nat Commun*, 8(1), p. 481. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41467-017-00492-w>.
- Wei, X. *et al.* (2014) 'Myxobacteria Produce Outer Membrane-enclosed Tubes in Unstructured Environments', *J Bacteriol*, 196(10), pp. 1807–1814. Available at: <https://doi.org/10.1128/JB.00850-13>.
- Wei, X., Pathak, D.T. and Wall, D. (2011) 'Heterologous Protein Transfer Within Structured Myxobacteria Biofilms', *Mol Microbiol*, 81(2), pp. 315–326. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2011.07710.x>.
- Weiss, A. *et al.* (2017) 'The ω Subunit Governs RNA Polymerase Stability and Transcriptional Specificity in *Staphylococcus aureus*', *J Bacteriol*, 199(2), pp. 459–516. Available at: <https://doi.org/10.1128/JB.00459-16>.
- Wiedermannová, J. *et al.* (2014) 'Characterization of HelD, an Interacting Partner of RNA polymerase from *Bacillus subtilis*', *Nucleic Acids Res*, 42(8), pp. 5151–5163. Available at: <https://doi.org/10.1093/nar/gku113>.
- Wilson, K.S. and Von Hippel, P.H. (1995) 'Transcription Termination at Intrinsic Terminators: The Role of the RNA Hairpin', *PNAS*, 92(19), pp. 8793–8797. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.92.19.8793>.
- Zuo, Y. *et al.* (2020) 'Structural Insights into Transcription Initiation from De Novo RNA Synthesis to Transitioning into Elongation', *iScience*, 23(9), p. 101445. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101445>.



Mgr. Jiří Pospíšil, Ph.D. (jiri.pospisil@biomed.cas.cz) je absolventem doktorského studijního programu Molekulární a buněčná biologie, genetika a virologie na Katedře genetiky a mikrobiologie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Karlovy. Dizertační práci s názvem „*Intracellular and intercellular regulation of gene expression in Gram-positive bacteria.*“ vypracoval na Mikrobiologickém ústavu AV ČR, v.v.i., v laboratoři Mikrobiální genetiky a genové exprese. Na tomto pracovišti i nadále působí a zabývá se hledáním nových antimikrobiálních látek (toxinů) s potenciálem využití v klinické praxi.

Neomendelovské mašinky

Mendele, ty blázne! Ty podivíne! Ty průkopníku. Ty, jenž jsi načrtl veškeré lidské jednání ve 44 stránkách svého článku. Ty, který jsi po fyzikální krádeži lidského těla ukradl člověku i charakter. Co jsi to provedl?

Je tomu již 150 let, co jsi zamkl lidstvo do žaláře vědomé nesvobody. Můžeš se vmlouvat, že tohle nebyl tvůj účel. Ale to jsi udělal. Redukoval jsi člověka na jeho guláš písmen GUAC, který se pouze nechává dozrát zkušenostmi. Ukázal jsi, že to je vše, co člověk je. Genetika a zkušenost v podobě času.

Nelze říct, že před tebou již nebyli předchůdci, kteří tyto teze pronesli. Fyzikové sebrali světu jeho magický charakter už dávno, jen aby ho spoutali do nutnosti fyzikálních zákonů. Dokázali, že příčina A vždy vede k účinku B. Lidé byli však bláhoví a stále doufali, že tyto zákony se týkají všeho s výjimkou jich samotných. Představovali si vesmír jako jednu velkou mašinu, ve které svobodně chodí člověk, nikoliv na základě mechanických zákonitostí, ale ze své vlastní vůle. Když si měli představit, že sami podléhají těmto pravidlům, tak se rozesmáli smíchem takové hlasitosti, že se jeho ozvěny stále ozývají uvnitř Leibnizova mlýnu. Kdyby se tomu nesmáli, tak by totiž mohla vzejít myšlenka, co když tomu tak není. Ty jsi však Leibnizův mlýn rozdrtil do trosek svým hrachem.

Nebyl jsi ani první, kdo by sebral mysli její svobodu. Spinoza přisoudil člověku nesvobodu ještě předtím, než Newton dal nesvobodu fyzice. Schopenhauer odhalil, jak vůle druhu podrývá svobodu jednotlivce, i v tak magicky nedeterministických citech, jako lásce, ještě předtím, než Darwin dal nesvobodu zvířatům. Nemluvě o Nietzsche, pro kterého je svoboda špatným vtipem. Ty jsi však jejich metafyzickým životním pocitům dodal empiricky dokazatelný vědecký základ.

Co však měli tito myslitelé společného? Nikdo je neposlouchal. Nikdo je nechtěl poslouchat. Mendele, možná to není tak, že by lidé už za tvého života chtěli slyšet tvou zprávu, kdyby jen věděli, jak důležitá je. Možná že lidé, stejně jako u těchto ostatních myslitelů dokazujících lidskou nesvobodu, znali dopad tvého myšlení a odmítali jej přijmout. Raději si zvolili klid falešné svobody před uvězněním do mendelovské mašinky. Tvé články však pronikly do sborníků a ukázaly lidskému charakteru jeho mechanická kolečka.

Zde však historie nekončí. Po prvním odmítnutí jsi byl třikrát objeven. Ani nevím, kdo z tvých objevitelů nese na této situaci větší vinu. Představa, že jsme jen mendelovské mašinky, byla otevřena jako Pandořina skříňka, aby vrhala veškeré své právoplatné zlo do tohoto světa.

Trvalo nám nějakou dobu, než jsme si na tuto představu zvykli. Všem mašinkám přeci nějakou dobu trvá, než zpracují své procesy. Nakonec tě však věda přijala. Pozitivismus tě přijal. Jen kontinentální filosofie se bránila, možná ve snaze zachovat si svobodu. Jak francouzské.

Přijali jsme svět, jakožto velkou mechanickou mašinu, ve které se pohybuje sada ozubených kol, říkající si člověk. Věděl jsi vůbec, co napácháš? Popkulturou tato představa rezonuje dodnes, ale kmit této rezonance s jistotou utichá a dochází k naprostému splnutí. Proto mezi učenými dochází k většinovému konsensu-člověk jsou jen geny a čas v podobě zkušeností. Mendelovské mašinky si uvědomily svůj původ a přijali svou mechanickou stránku. Magie se ze světa zcela vytratila. Člověk byl namísto cestovatele mezi světy zcela ukotven v tomto světě fyzikálními a genetickými zákony.

Mendelovské mašinky si po uvědomění své role uvědomily i to, že samy mohou tvořit další mašinky. Člověk jsou jen geny a zkušenosti. My umíme upravovat lidské zkušenosti. Stačí nám tedy schopnost upravovat geny a můžeme upravovat celého člověka. Tak se zrodila idea neomendelovských mašinek. Člověk by mohl upravit geny a výchovu tak, aby si vytvořil svou vlastní mašinku. Mašinky tvořící neomašinky.

Jak budou tyto neomendelovské mašinky vypadat? To nevíme. Je tu tolik možností. Můžeme je uzavřít do těla bez vědomí, jako filozofické zombie. Můžeme vytvořit skutečné nadlidi převyšující nás obyčejné mašinky. Můžeme jim dát žábry a nechat je budovat říše, aby se z nich stali čapkovští mloci vedoucí války s námi mašinkami zastaralými. Mohou vytvořit své vlastní neo-neomendelovské mašinky, dokud nedosáhneme mašinkovské singularity. Nikdo neví.

Možná v tom je ta chyba. Zase se vyhýbáme otázce, dokud nás její důsledky neprašťí do tváře. Schováváme se před otázkou, jaké neomendelovské mašinky vytvoříme. Pod kabátem toho, že nemáme technologie, se otázce vyhýbáme a navrchol přidáme pár legislativních zákazů, bránících vykročení do šedé zóny.

Tuto otázku bychom však měli zodpovědět, ještě předtím, než ji dožene věda a bude možné neomendelovské mašinky vytvořit. Potřebujeme debatu. Jaké mašinky smíme tvořit? Za jakých účelů? A jaká jsou jejich práva? Jsou všechny neomendelovské mašinky sobě rovny? Jsou rovny mendelovským mašinkám? Jsou limity tvorby mašinek, jež se nesmí překročit?

Já neznám odpovědi na jedinou z těchto otázek. My neznáme odpovědi, na jedinou z těchto otázek.

Není pochyb, že neomendelovské mašinky v sobě nesou neskutečný potenciál. Mohou svět zachránit nespočtem způsobů. Nespočtem způsobů jej ale mohou také zničit. Musíme tento nekonečný potenciál nejdříve pořádně analyzovat a popsat po všech morálních i technických stránkách, aby se nestalo, že neomendelovské mašinky nejprve zničí svět a až poté budou všichni lidé prohlašovat, že to bylo všechno špatně.

Zde musím na chvíli odbočit od svých dystopických prococtví. Nevěřím, že nastane konec. Nevěřím, že nás neomendelovské mašinky nahradí, ani, že proti nám rozpoutají válku. Věřím pouze, že dojde k nespravedlnostem.

Tak to bylo vždy. Člověk nejdříve zotročuje, pak se ptá, zda to je spravedlivé a výhodné. Nejdříve ohrozíme svět ekosystémů, až poté se ptáme, zda to bylo výhodné a jak rozprostit vinu. Lidé vedou válku a o padesát let později zjistí, že všechny důvody této války byli zbytečné, ne-li přímo nespravedlivé. Jsme přeci mašinky – naše vnitřní machinace nás nutí k akci a otázky rozumu ke spravedlnosti činu přicházejí až ex post.

Jestli má tento text nějakou výzvu do budoucna, je to tato: prozkoumejme pro jednou tyto otázky ještě předtím, než nastanou jejich důsledky. Lidstvo se snaží tvrdit, že dospělo své dospělosti. Dokažme to tím, že se pro jednou taktéž využijeme svůj rozum předtím, než začneme jednat.

Mendele, já se ti omlouvám. Křivdím ti. Chtěl jsem z tebe udělat padoucha, ale to nemohu. Ty nejsi padouch. Ty jsi podivín, blázen a průkopník. Jsi vizionář, který sám objevil to, co se lidstvo rozhodlo po milénia přehlížet. Objevil jsi, že lidský život spěje kupředu stejnou nutností jako kámen, který padá na stráni. Za to, že se nám nelíbí závěry vyplývající z tvého bádání, nemůžeme vinit tebe, ale snad přírodu samu. Ukázal jsi, že vše živé je vlastně jen mendelovská mašinka. My tuto znalost vzali do svých rukou v touze utopických projektů tvorby mašinek vlastních. Sledujme, jak se člověk

stává bohem. Možná měl bůh navždy zůstat skrytý i se svou znalostí, že vesmír je jen jedna velká nutnost. Ty jsi nám jako Prométheus přinesl plamen tohoto poznání. Za to tě nemůžu upalovat na hranici. Buďme rádi, když se lidstvo samo neupálí tvým plamenem.

Se slzou v oku teď můžeš odpočívat a sledovat, jak lidé vytvářejí neomendelovské mašinky, které si dobývají svět. Odhalil jsi boží pravdu a my ji využijeme pro vlastní tvorbu tvých mašinek. Několik lidí se bude smát, několik lidí bude brečet, většina bude tichá. Stal ses životem. Stal ses smrtí.

Mendele, omlouvám se ti nastokrát. Jsi vizionář. Odhalil jsi, že člověk je mendelovská mašinka. Předal jsi člověku tento fakt o nátuře lidské existence, o němž se filozofové hádali po milénia. Ty jsi odhalil pravdu. Nelíbil ses mi, protože se mi nelíbila tvá pravda. Ale pravdu nelze nenávidět. Pravdu lze jen přijmout. Přiznávám, jsme mendelovské mašinky. Tak to prostě je. Přijali jsme tento fakt, a i tak milujeme život. Děkuji ti Mendele, za tvá velkolepá odhalení. Ty blázne. Ty podivíne. Ty průkopníku.

Autorem eseje je Ondřej Chlubna, jeden ze studentů kurzu Příběhu vědy: gen, který na Přírodovědecké fakultě MU v Brně vede prof. J. Šmarda.

Cenu dr. Ludmily Sedlárovej-Rabanovej v roku 2022 získal Miroslav Baláž z Ústavu experimentálnej endokrinológie Biomedicínskeho centra SAV

Po dvoch rokoch, v ktorých boli Ceny a Štipendiá dr. Ludmily Sedlárovej-Rabanovej (ďalej LSR) (<http://www.naturaoz.org/LSR.html>) odovzdávané online, prebehol ceremoniál k 7. ročníku v Prezentačnom centre Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave. Ako v uplynulých ročníkoch, aj teraz sa do finále dostalo niekoľko výnimočných kandidátov a kandidátok. Z nich členovia komisie konsenzom vybrali za laureáta Ceny Mgr. Miroslava Baláža, PhD. z Ústavu experimentálnej endokrinológie Biomedicínskeho centra SAV, v. v. i., za prácu uverejnenú v *Nature Metabolism* (Dong a kol., 2022), ktorej výsledky prispeli k identifikácii nových molekulárnych mechanizmov kontrolujúcich metabolickú aktivitu tukového tkaniva. Kvalitu vedeckej práce dr. Baláža podčiarkuje fakt, že za posledný rok bol spoluautorom ďalších štúdií venovaných tejto problematike, z čoho dve boli publikované v *Nature Metabolism* (Ding a kol., 2021), resp. *Nature Communications* (Balážová a kol., 2021). Pre študentov Univerzity Komenského môže byť zaujímavé, že dr. Baláž pripravil nový kurz *Advances in Physiology* primárne určený pre poslucháčov magisterského programu fyziológia živočíchov a etológia, ktorý je však otvorený aj pre študentov príbuzných programov.

Okrem hlavnej Ceny sa komisia rozhodla využiť možnosť udeliť aj dve Špeciálne ceny pre mladé vedecké pracovníčky, Mgr. Andreu Cillingovú, PhD. a Mgr. Veronu Buocikovú, PhD. Dr. Cillingová z Katedry biochémie Prírodovedeckej fakulty Univerzity Komenského v Bratislave bola prvou autorkou publikácie v časopise *PLoS Genetics*, v ktorej so svojimi spoluautormi osvetlila transkriptomickú a metabolickú adaptáciu buniek kvasiniek *Candida parapsilosis* na hydroxyderiváty benzénu a kyseliny benzoovej (Cillingová a kol., 2022). Dr. Buociková z Ústavu experimentálnej onkológie (BMC SAV, v. v. i.) bola prvou autorkou dvoch prác popisujúcich efekt decitabínu na ľudské nádorové bunky (Buociková a kol., 2022a, b). Medzi finalistami boli aj Mgr. Marek Slovák, PhD. z Centra biológie rastlín a biodiverzity SAV s publikáciou zameranou na význam hybridizácie v procese speciácie rastlín (Slovák a kol., 2022) a Mgr. Tomáš Sládeček s prácou zaoberajúcou sa analýzou tzv. *copy-number* variantov v ľudskom genome (Sládeček a kol., 2022).

Štipendium LSR bolo udelené Mgr. Eve Kocianovej (Virologický ústav, BMC SAV, v. v. i.) na pobyt na University of Oxford, Mgr. Nine Mayerovej (Katedra genetiky, PriF UK) na konferenciu *11th International Fission Yeast meeting* v Hiroshime (Japonsko) a Mgr. Danielovi Eliašovi (Katedra mikrobiológie a virológie, PriF UK) na úhradu nákladov súvisiacich so *16th European Conference on Fungal Genetics*.

Laureáti cien, držitelia štipendií, ale aj ostatní nominovaní sú príkladmi, že v našich podmienkach sa dá robiť kompetitívny výskum, ktorého výsledky nielen majú medzinárodný ohlas, ale poskytujú aj príležitosť na zdieľanie potešenia z úspechov členov slovenskej vedeckej komunity.

Ocenené práce:

Hlavná cena:

Dong, H., Sun, W., Shen, Y., Baláž, M., Balážová, L., Ding, L., Löffler, M., Hamilton, B., Klöting, N., Blüher, M., Neubauer, H., Klein, H., Wolfrum, C. (2022). Identification of a regulatory pathway inhibiting adipogenesis via RSPO2. *Nat. Metab.* 4: 90-105.

Balážová, L., **Baláž, M.**, Horvath, C., Horváth, Á., Moser, C., Kovanicova, Z., Ghosh, A., Ghoshdastider, U., Efthymiou, V., Kiehlmann, E., Sun, W., Dong, H., Ding, L., Amri, E.Z., Nuutila, P., Virtanen, K.A., Niemi, T., Ukropcová, B., Ukropec, J., Pelczar, P., Lamla, T., Hamilton, B., Neubauer, H., Wolfrum, C. (2021). GPR180 is a component of TGF β signalling that promotes thermogenic adipocyte function and mediates the metabolic effects of the adipocyte-secreted factor CTHRC1. *Nat. Commun.* 12: 7144.

Ding, L., Sun, W., **Baláž, M.**, He, A., Klug, M., Wieland, S., Caiazzo, R., Raverdy, V., Pattou, F., Lefebvre, P., Lodhi, I.J., Staels, B., Heim, M., Wolfrum, C. (2021). Peroxisomal β -oxidation acts as a sensor for intracellular fatty acids and regulates lipolysis. *Nat. Metab.* 3: 1648-1661.

Špeciálna cena pre mladých vedeckých pracovníkov:

Cillingová, A., Tóth, R., Mojáková, A., Zeman, I., Vrzoňová, R., Siváková, B., Baráth, P., Neboháčová, M., Klepcová, Z., Brázdovič, F., Lichancová, H., Hodorová, V.,

Brejová, B., Vinař, T., Mutalová, S., Vozáriková, V., Mutti, G., Tomáška, L., Gácsér, A., Gabaldón, T., Nosek, J. (2022). *PLoS Genet.* 18: e1009815.

Buociková, V., Tyčiaková, S., Pilalis, E., Mastrokalou, C., Urbanová, M., Matúšková, M., Demková, L., Medová, V., Longhin, E.M., Rundén-Pran, E., Dušinská, M., Rios-Mondragon, I., Cimpan, M.R., Gábelová, A., Šoltýsová, A., Smolková, B., Chatziioannou, A. (2022a). Decitabine-induced DNA methylation-mediated transcriptomic reprogramming in human breast cancer cell lines; the impact of DCK overexpression. *Front. Pharmacol.* 13: 991751.

Buociková, V., Longhin, E.M., Pilalis, E., Mastrokalou, C., Miklíková, S., Cihova, M., Poturnayová, A., Macková, K., Bábelová, A., Trnková, L., El Yamani, N., Zheng, C., Rios-Mondragon, I., Labudová, M., Csáderová, L., Kuracinová, K.M., Makovický, P., Kučerová, L., Matúšková, M., Cimpan, M.R., Dušinská, M., Babal, P., Chatziioannou, A., Gábelová, A., Rundén-Pran, E., Smolková, B. (2022b). *Biomed. Pharmacother.* 147: 112662.

Ďalšie nominované práce, ktoré sa dostali do finále:

Gažiová, M., **Sládeček, T.**, Pös, O., Števkó, M., Krámpf, W., Pös, Z., Hekel, R., Hlavačka, M., Kucharík, M., Radvánszky, J., Budiš, J., Szemes, T. Automated prediction of the clinical impact of structural copy number variations. (2022). *Sci. Rep.* 12: 555.

Slovák, M., Melichárková, A., Gbúrová Štubňová, E., Kučera, J., Mandáková, T., Smyčka, J., Lavergne, S., Passalacqua, N.G., Vďačný, P., Paun, O. (2022). Pervasive introgression during rapid diversification of the european mountain genus *Soldanella* (L.) (Primulaceae). *Syst. Biol.* syac071, <https://doi.org/10.1093/sysbio/syac071>



Obrázok 1. Držiteľ Ceny LSR za rok 2022 Mgr. Miroslav Baláž, PhD. z Ústavu experimentálnej endokrinológie Biomedicínskeho centra SAV, v. v. i. Foto: Zuzana Vetrecin Čeplíková, BMC SAV, v. v. i.



Obrázok 2. Laureáti cien a držiteľia štipendií LSR za rok 2022. Zľava: prof. RNDr. Jozef Nosek, DrSc. (Katedra biochémie PriF UK, člen hodnotiacej komisie), Ing. Martina Neboháčová, PhD. (Katedra biochémie PriF UK, predsedníčka občianskeho združenia Natura), prof. RNDr. Alexander Lux, CSc. (Katedra fyziológie rastlín PriF UK, člen hodnotiacej komisie), prof. RNDr. Peter Fedor, DrSc. (dekan PriF UK), Ing. Peter Robl (zástupca Fondu LSR), Mgr. Miroslav Baláž, PhD. (Ústav experimentálnej endokrinológie, BMC SAV, v. v. i., laureát hlavnej Ceny LSR), Mgr. Daniel Eliaš (Katedra mikrobiológie a virológie PriF UK, držiteľ štipendia LSR), Mgr. Verona Buociková, PhD. (Ústav experimentálnej onkológie, BMC SAV, v. v. i., laureátka špeciálnej ceny LSR), Mgr. Nina Mayerová (Katedra genetiky PriF UK, držiteľka štipendia LSR), Ing. Viliam Sedlár (sponzor Fondu LSR), Mgr. Eva Kocianová (Virologický ústav, BMC SAV, držiteľka štipendia LSR), prof. RNDr. Ľubomír Tomáška, DrSc. (Katedra genetiky, člen hodnotiacej komisie). [laurátka druhej špeciálnej ceny LSR, Mgr. Andrea Cillingová, PhD. z katedry biochémie PriF UK na fotografii chýba z dôvodu pobytu na zahraničnom pracovisku]. Foto: Zuzana Vetrecin Čeplíková, BMC SAV, v. v. i.

KeyGene bude pořádat Mendelův den 2023 ve Wageningenu



Mendelův den organizovaný společností KeyGene se bude konat ve středu 8. března ve Wageningenu, v Nizozemsku. Během této události ředitel Moravského muzea v Brně dr. Jiří Mitáček předá Mendelovu pamětní medaili expertovi na Mendela a genetikovi rostlin Peteru van Dijkovi. Tato medaile je ročně udělována jako akt uznání významným osobnostem za jejich příspěvek pro vývoj vědeckého a kulturního dědictví J. G. Mendela a genetiky samotné.

Mendelův den je organizován na popud Mendeliána Moravského muzea v Brně. Mendelův den v březnu doplňuje Darwinův den v únoru a den DNA v dubnu, čímž dochází k symbolickému propojení tradiční a moderní biologie. Na této události se podílejí mezinárodně uznávaní vědci ať už působící na poli genetiky nebo ti, kteří studují osobnost Gregora Mendela a jeho dědictví.

Mendelův den je organizován každý rok v den, kdy Johan Gregor Mendel podruhé přednášel své poznatky v roce 1865. Při těchto přednáškách představil výsledky ze svého slavného pokusu křížení hrachu, čímž se stal zakladatelem genetiky.



Registrace a podrobnosti dostupné na

www.keygene.com/mendel-day-2023

**Zdroj: písemné zkoušky z genetiky, PŘF UK, Praha, 2019–2021
doc. RNDr. Dana Holá, Ph.D., Katedra genetiky a mikrobiologie, PŘF UK, Praha**

Paradox c-hodnoty znamená, že člověk není horší než améba.

Centromera umožňuje civilizovaný a vyrovnaný rozchod chromatid během mitózy.

Penetrance znamená vniknutí do buňky přes membránu.

Chí kvadrát test se dělá metodou valivé kružnice.

Rekombinační mapování u člověka je založeno na sledování dědičných stromů a meiózy jednotlivých buněk v buněčných kulturách (ale pouze 1 generace, oplození by měli problémy s etikou)

FISH je fluorescenční in suite hybridizace a znamená to, že pracujeme s metafyzickými, komplementárními, fluorescenčními, jednořetězcovými chromozómy

Příklad transgenního živočicha: prasata, která dokázala zpracovat fosfor, výsledkem bylo, že svítila (*pozn.: studentka si zřejmě smíchala dohromady tzv. Enviropig a živočichy s vneseným*

Členové výboru

RNDr. Pavel Lízal, Ph.D.

předseda

Ústav experimentální biologie, PřF MU

Kotlářská 2, 611 37 Brno

lizal@sci.muni.cz

prof. RNDr. Eva Čellárová, DrSc.

Katedra genetiky, PrF UPJŠ

Mánesova 23

041 54 Košice – Staré Mesto

eva.cellarova@upjs.sk

doc. RNDr. Dana Holá, Ph.D.

tajemnice za ČR

Katedra genetiky a mikrobiologie, PřF UK, Praha

Viničná 5, 128 43 Praha 2

danahola@natur.cuni.cz

prof. RNDr. Aleš Knoll, Ph.D.

hospodář za ČR

správce webových stránek GSGM

Ústav morfologie, fyziologie a genetiky zvířat,

AF MENDELU v Brně

Zemědělská 1, 613 00 Brno

knoll@mendelu.cz

Mgr. Alexandr Sember, Ph.D.

hlavní redaktor IL

Ústav živočišné fyziologie a genetiky AV ČR, v.v.i.

Rumburská 89, 277 21 Liběchov

semer@iapq.cas.cz

doc. Mgr. Miroslava Slaninová, Ph.D.

hospodářka a tajemnice za SK

Katedra genetiky, PriF UK

Mlynská dolina B I, 842 15 Bratislava

slaninova@fns.uniba.sk

prof. MUDr. Ondřej Šeda, Ph.D.

místopředseda

Ústav biologie a lékařské genetiky, 1. LF UK

Albertov 4, 128 01 Praha 2

ondrej.seda@lf1.cuni.cz

doc. RNDr. Sabina Ševčíková, Ph.D.

Kamenice 753/5, 625 00 Brno

Ústav patologické fyziologie, LF MU

sevcik@med.muni.cz

doc. RNDr. Andrea Ševčovičová, PhD.

Katedra genetiky PriF UK

Mlynská dolina B I, 842 15 Bratislava

andrea.sevcovicova@uniba.sk

prof. RNDr. Ľubomír Tomáška, DrSc.,

místopředseda

Katedra genetiky, PriF UK

Mlynská dolina B I, 842 15 Bratislava

tomaska@fns.uniba.sk

prof. Ing. Tomáš Urban, Ph.D.

správce webových stránek GSGM

Ústav morfologie, fyziologie a genetiky zvířat,

AF MENDELU v Brně

Zemědělská 1, 613 00 Brno

urban@mendelu.cz

Revizoři účtů

RNDr. Tomáš Mašek, PhD.

Katedra genetiky a mikrobiologie, PřF UK

Viničná 5, 128 44 Praha 2

masek@natur.cuni.cz

Mgr. Katarína Procházková, PhD.

Katedra genetiky PriF UK

Mlynská dolina B I, 842 15 Bratislava

katarina.prochazkova@uniba.sk

Aktuální seznam členů výboru je uveden na webu GSGM.



Genetická společnost Gregora Mendela z.s.

je sdružení profesionálních genetiků a zájemců o tento obor. Cílem GSGM je rozvíjet spolupráci v rámci oboru i mimo něj, přilákat nové zájemce a informovat širokou veřejnost o nejnovějších poznatcích o genetice.

