

## Oponentský posudek disertační práce Mgr. Zuzany Naščákové

Předložená disertační práce Zuzany Naščákové se zabývá studiem mechanismu nádorové transformace žaludeční tkáně způsobené patogenní bakterií *Helicobacter pylori*. Přestože bylo popsáno, že infekce *H. pylori* je spojena se zvýšeným výskytem dvouvláknových zlomů DNA, mechanismus, proč se tak děje, je neznámý. Proto pochopení těchto mechanismů a stanovení správných biomarkerů k přesné předpovědi protinádorové léčby je zásadní pro budoucí vývoj účinnějších terapeutických strategií.

Úvodní kapitola je čtivá a srozumitelná a poskytuje vhled o hlubších poznatcích relevantních témat. Popisuje patogenní bakterii *H. pylori* a jeho podrobný mechanismus působení na hostitelské buňky, včetně popisu zapojených signálních drah. Rovněž zavádí pojem RNA-smyčky, původ jejich vzniku, a následky zvýšeného výskytu. Text je doplněn přehlednými schématy a obrázky a literatura je víceméně vhodně citována.

Hlavními cíli studie je přispět k lepšímu porozumění výskytu RNA-smyček vznikajících během transkripce a jejich odstranění tak, aby nenarušovaly stabilitu genomu, která by mohla vést k nádorové transformaci. Vybrané vědecké otázky jsou originální a zajímavé a vykazují podstatnou vědeckou hodnotu. Výsledky předložené práce jsou součástí publikací ve vysoce impaktovaných časopisech (*Nature Communication*, *Molecular Cell* a *Cell Reports*) a proto nelze pochybovat o jejich vysoké kvalitě.

Autorka nejprve zavedla a optimalizovala protokoly pro detekci zlomů DNA a RNA-smyček uvnitř buněk pomocí fluorescenční mikroskopie a následně nastavila automatizovanou softwarovou analýzu pro detekci a kvantifikaci imunofluorescenčního signálu, čímž významně přispěla ke zrodu dvou výše zmíněných publikací, u kterých je spoluautorkou (*Molecular Cell* a *Cell Reports*). Své poznatky dále využila v hlavní studii své práce publikované v *Nature Communication*, kde je první autorkou. Společně se svými kolegy ukázala, že jsou to právě RNA-smyčky, které vedou po infekci *H. pylori* k tvorbě dvouvláknových zlomů DNA uvnitř hostitelských buněk žaludeční tkáně a následnému karcinomu žaludku.

Diskuse je relevantní a dobře prezentovaná, systematicky diskutovaná krok za krokem ve světle získaných výsledků. Ukazuje, že autorka má přehled o tématu a na základě získaných poznatků je schopna formulovat hypotézu pro další testování. Práce vyniká logickou strukturou a sledem. Výzkum popsany v této práci bude zajímat širokou škálu vědců pracujících v oblasti oprav DNA, stability genomu a rakoviny. K větší spokojenosti čtenářů bych odstranila pár převážně formátovacích chyb a přiložila celý obsah všech tří původních článků.

Po pečlivém posouzení s potěšením doporučuji předloženou disertační práci k obhájení a udělení titulu PhD.

**Otázky do diskuze:**

V práci není uvedeno, jak přesně působí inhibitor BAY 11-7082 a kde v signální dráze  $\beta$ -ADP-heptose/ALPK1/TIFA/NF- $\kappa$ B stojí IKK $\alpha$ . Prosím o doplnění.

Proč TNF $\alpha$  jako jeden z hlavních aktivátorů NF- $\kappa$ B nevede k indukci RNA-smyček? Jsou transkripční cíle této dráhy odlišné od transkripčních cílů dráhy  $\beta$ -ADP-heptose/ALPK1/TIFA/NF- $\kappa$ B?

Kolik NF- $\kappa$ B je translokováno do jádra po infekci *H. pylori*, a jak rychle, v porovnání s TNF $\alpha$ ?

Jaký je časový sled událostí po infekci *H. pylori*? Jak rychle po infekci vznikají RNA-smyčky a dvouvláknové zlomy DNA?

Prosím o vysvětlení molekulárního mechanismu účinku inhibitoru triptolide v porovnání s jinými inhibitory transkripce jako je DRB či  $\alpha$ -amanitin. Mají tyto inhibitory stejný efekt na vznik RNA-smyček a dvouvláknových zlomů DNA po infekci *H. pylori*?

V Praze dne 8. ledna 2021

-----  
Hana Hanzlíková, PhD