

Oponentský posudek na disertační práci Mgr. Petry Sudzinové *Faktory ovlivňující genovou expresi u Bacillus subtilis.*

Mgr. Petra Sudzinová vypracovala svoji disertační práci s názvem *Faktory ovlivňující genovou expresi u Bacillus subtilis* v Laboratoři mikrobiální genetiky a genové exprese pod supervizí vedoucího této laboratoře dr. Krásného. Jak název disertační práce napovídá, Petra se ve všech publikacích přiložených k této práci zajímala a různé zejména endogenní faktory mající vliv na expresi genů grampozitivní bakterie *Bacillus subtilis* a kyselinám odolné bakterie *Mycobacterium smegmatis*.

Petra podává disertační práci ve zkrácené formě, k čemuž jí počet přiložených publikací, tj. sedm, naprosto opravňuje. Předložená práce obsahuje veškeré požadované části jako je seznam základních zkratk, úvod, český a anglický abstrakt, literární rešerši, již zmíněné publikace prošlé oponentním řízením v impaktovaných časopisech, a diskusi, kde Petra velmi pěkně shrnuje a diskutuje výsledky nejen své a i jiných pracovních skupin zabývajících se stejnými vědeckými tématy. Celá práce je psána velmi dobrou angličtinou.

V první části práce, literárním přehledu na celkem zhruba sedmnácti stranách autorka velmi pěkně a srozumitelně popisuje jak bakteriální RNA polymerázu jako takovou včetně bazálního popisu fází transkripce, tak zejména právě faktory ovlivňující genovou expresi od faktorů proteinových (transkripční faktor Spx, RNázuJ1 a pravděpodobnou helikázu HelD) přes malé molekuly typu (p)ppGpp či iniciačních ribonukleotidů, až po vliv topologie na míru bakteriální transkripce.

Hlavním těžištěm předkládané práce je již výše zmíněných sedm publikací, z nichž je každá představena krátkým, zhruba jednostránkovým shrnutím uvádějícím hlavní výsledky dané publikace. U prací je také uveden procentuální podíl Mgr. Sudzinové na jejich vypracování, včetně konkrétního metodického či jiného přínosu Petry na dané publikaci. Hlavním vědeckým zájmem Petry byla od počátku jejího vědeckého bádání pravděpodobná helikáza HelD z bakterie *Bacillus subtilis*, což je patrné z publikací, které se tomuto proteinu podrobně věnují. Petra byla u popsání HelD jakožto vazebného partnera RNA polymerázy a u stanovení jeho biochemických vlastností (*Characterization of HelD, an interacting partner of RNA polymerase from Bacillus subtilis*), následně se podílela na stanovení první trojrozměrné struktury HelD pomocí metody SAX, kdy bylo také ukázáno doménové složení daného proteinu (*Domain structure of HelD, an interaction partner of Bacillus subtilis RNA polymerase*) a v neposlední řadě byla sdílenou první autorkou publikace ukazující strukturu proteinového komplexu RNA polymerázy a HelD pomocí CryoEM v prestižním časopise *Nature Communications* (*Mycobacterial HelD is a nucleic acids-clearing factor for RNA polymerase*). Dalším prvoautorským počinem Petry je recentní popis ovlivnění míry transkripce stavem nadšroubovicového vinutí genomové DNA u bakterie *Bacillus subtilis* (*Effects of DNA topology on transcription from rRNA promoters in Bacillus subtilis*). V dalších dvou publikacích se Petra podílela jako spoluautorka na charakterizaci role transkripčního faktoru Spx a malého nukleotidu (p)ppGpp v regulaci genové exprese bakterie *Bacillus subtilis* za teplotního stresu (*Spx, the central regulator of the heat and oxidative stress response in B. subtilis, can repress transcription of translation-related genes; The alarmones (p)ppGpp are part of the heat shock response of Bacillus subtilis*). A v neposlední řadě se Petra také podílela na popisu nového mechanismu odstranění komplexů RNA polymeráz zastavených na templátové bakteriální DNA, přičemž tyto komplexy následně brání efektivní transkripci práci (*The torpedo effect in Bacillus subtilis: RNase J1 resolves stalled transcription complexes*).

Nedílnou součástí předložené disertační práce je obsáhlá diskuze, rozvedena na osmnácti stranách textu, které pouze podtrhuje a zdůrazňuje nespornou kvalitu této disertační práce. Autorka diskutuje své výsledky nejenom v kontextu jednotlivých prací přiložených k této disertaci, ale také v kontextu s vědeckou literaturou zaobírající se řešenou tematikou. Diskuse prokazuje výbornou orientaci Petry ve zvolené problematice jakožto i její schopnost kriticky posoudit a hodnotit dosažené výsledky v širším kontextu.

Všech sedm přiložených publikací prošlo náročným *peer review* oponentním řízením ve velmi kvalitních časopisech, což prokazuje schopnost nejenom Mgr. Petry Sudzinové, ale také celého řešitelského kolektivu, velmi kvalitní vědecké práce. K předložené práci mám následující komentáře, poznámky či dotazy, obecně pramenící z mé zvědavosti, případně z mé neznalosti:

- 1) Vcelku mne zaujala situace okolo sigma faktoru N (sigN, strana 20) lokalizovaného na plasmidu a nikoliv v genomu. Je to unikátní situace či je znám nějaký jiný obdobný případ u některých druhů bakterií či *archea*?
- 2) Je něčím specifický ribozomální gen rpmEB, jehož exprese jakožto jediného ribozomálního genu byla zvýšena v experimentech testujících $\Delta clpX$ a Δspx kmeny (publikace 2, obrázek 3A). Nebo je jeho exprese zvýšena za jakýchkoliv „nekomfortních“ či stresových podmínek?
- 3) Proč je nutno inkubovat vznikající komplex RNAP:HelD ve tmě (publikace III, str. 999)?
- 4) K publikaci III, konkrétně k obrázku 4 mám ještě dva dotazy. Opravdu se pohybuje deleční varianta HelD Δ N v nativním akrylamidovém gelu stejně rychle jako nedeletovaná, o cca 200 AK větší varianta HelD (obrázek 4B)? Z toho samého obrázku mám pocit, že vazebná schopnost HelD Δ N k RNAP je větší než u nedeletované varianty? Je to možné?
- 5) K velice pěknému „topologickému“ článku (*aka* publikace VII), resp. k obrázku 1 bych si dovilil vyjádřit pochybnost o tom, že u koncentrace GTP (zeleně) zobrazené chybové úsečky ukazují rozsah ze dvou měření, neb je každá úsečka jinak dlouhá.
- 6) K té samé publikaci – nemohou být výsledky ovlivněny nevyhnutelnou přítomností LIN a OC konformace plasmidu v SC preparaci (obrázek S3)?
- 7) Máte nějakou teorii shrnující vliv topologie templátu na účinnost transkripce?
- 8) Pouze jedna formální poznámka na závěr - k publikaci IV by bylo vhodné přiložit také doplňující obrázky, nejenom jejich legendy.

Navzdory všem výše uvedeným připomínkám, komentářům, poznámkám a dotazům doporučuji tuto práci k obhajobě.

24. ledna 2021 v Praze

Václav Vopálenský