



## POSUDEK NA DIZERTAČNÍ PRÁCI Mgr. Jakuba Nováka

### Virulence of *Bordetella pertussis* from an Omics Perspective

Předložená dizertační práce je sepsána ve zkrácené formě na velice aktuální biomedicínské téma a to s použitím **celého spektra moderních relevantních metodik**. Jakub Novák se formátu práce zhostil velice dobře. Jednak práci sepsal **velice dobrou angličtinou** s minimem formálních nepřesností, vhodně balancoval v literárním přehledu mezi nezbytnými obecnostmi a nutností detailně vysvětlit příslušné molekulární mechanismy. Úvodní část velice kvalitně zpracovaným a čtivým způsobem na cca 36 stranách představuje recentní publikované informace tematizované patogenem zodpovědným za patofyziologické projevy černého kašle – a to ve velice komplexním evolučním, genomickém i proteomickém kontextu s důrazem na “závody ve zbrojení” mezi hostitelem a tímto konkrétním patogenem. Použité literární zdroje jsou reprezentativním a v řadě ohledů vyčerpávajícím přehledem relevantní literatury. Práce neobsahuje specifickou výsledkovou část – tou jsou publikace připojené jako příloha. V kontextu s kvalitní diskusí (14 bohatě citovaných stran), kde jsou příslušné práce uvedeny do metodického a modelového kontextu (a mimořádně kvalitním a hloubky jdoucím literárním úvodem) je možné považovat patřičnou tematizaci experimentálních výsledků za splněné.

Jakub Novák je **prvním autorem čtyř vědeckých publikací** v kvalitních biomedicínských časopisech. Jedním z nich je review věnované adenylátcyklázovému toxinu v kontextu modulace aktivity fagocytů v časopise *Toxins* – IF 3.531. Další, věnující se pomyslnému efektu „motýlího křídla“ – jak poměrně subtilní změna genomu může mít obecný efekt na regulaci produkce virulencních faktorů *B. pertussis* je jedním z mála českých příspěvků v novém žurnále věnujícím systémovým přístupům v mikrobiologii *mSystems* (IF 6.633). Dále se jedná o příspěvek tematizující acetylom B *pertussis* v kontextu lysinové deacetylázy Bkd1 (*Journal of Proteome Research* – IF 4.074). Článek v *Scientific Reports* (IF 3.998) se věnuje fosfoproteomice signalizace prostřednictvím druhého posla cAMP produkovaného adenylátcyklázovým toxinem *B. pertussis* v myších dendritických buňkách. Společný význam všech experimentálních prací spočívá v tom, jak je již zmíněno v názvu práce, že se snaží *unbiased* přístupem pomocí OMICS přístupů řešit vysoce komplexní fenomény specifické pro konkrétní patogen a jeho interakci s hostitelem. Dalším důležitým aspektem práce je to, že přináší nové poznatky v mainstreamové, **vysoce kompetitivní oblasti biomedicínského výzkumu**, které mají navíc obecnější přesahy do imunologické a bakteriologické teorie.

Shrnuto a podrženo, kvalita publikovaných prací spolu s kvalitou příslušných časopisů je zcela dostatečná pro mé kladné hodnocení předložené kvalifikační práce. Metodiky jsou dostatečně popsány a umožňují reprodukování experimentů. Výborná je diskuse, u každé práce je uveden konkrétní příspěvek autora dizertační práce. Za hodno obzvláštního zřetele považuji to, že Jakub Novák se **významně podílel na sepisování publikací** včetně tvorby prvotního draftu, dále, že se evidentně podílel na komplexním designu příslušných experimentů.

Je evidentní, že Jakub Novák využívá skvělého intelektuálního a metodického zázemí školitelské laboratoře, kde se pokládají otázky ptající se po molekulárních a buněčných mechanismech patofyziologie *Bordetella pertussis*. Celkově je použita **metodická šíře a hluboký vhled do studované problematiky přesvědčivě dokumentovaná**, a to jak v úvodním literárním přehledu, tak v zvláště v diskusí na konci práce – což je opět jednoznačným argumentem pro udělení titulu Ph.D. za jménem.

K práci bych měl následující dotazy a komentáře:

1. Na straně 51 jsou popisovány technické problémy a omezení přípravy 3D organotypické struktury plicního epitelu/sliznice. Jen technická poznámka, na praktických cvičeních z histologie provádíme primitivní otiskové preparáty plic s nesmírně zajímavými transfery buněčných typů. Nemohlo by se jednat o vhodný model primárních kultur?
2. Mimochodem jaké různé buněčné typy jsou součástí plicní tkáně (s důrazem na epitel) a u kterých byla prokázána interakce s B.p.?
3. Po interakci s CyaA jste našli modulaci mTOR signalizace. Souvisí to nějak s modulací autofagie, která by v tomto případě byla vysoce relevantní?
4. Hitem současné funkční histologie (ale i pomezí patogen/hostitel) je single cell transkriptomika. Bylo něco obdobného provedeno pro B. p., případně obdobné infekce? Je možné charakterizovat transkriptom bakterie na pozadí infikované buňky?
5. S fosfoproteomové práci jste použili BMDC, nakoľik je tento buněčný model relevantní pro interakci s B.p.? Je možné připravit relevantní model tkáňových makrofágů – konkrétně toho typu, který je pozůstatkem embryonálních vln diferenciacie makrofágů (mikroglie, Langerhansovy buňky, Kupferovy buňky).
6. Je možné při proteomické fosforylační studii charakterizovat bakteriální fosfoproteom na „pozadí“ toho hostitelského?
7. Práce věnující se acetolomu diskutuje dlouhodobé následky infekce B.p., byly pozorovány nějaké tkáňové transdiferenciacie popř. metaplázie? Můžeme nalézt nějaké paralely s dlouhodobými následky po překonání Covid-19?
8. Objevil jste novou bakteriální lysinovou deacetylázu, jak velká část genomu B.p. je dosud funkčně necharakterizovaná? Jsou zde další možné geny pro deacytylační enzymy?

Na závěr bych chtěl konstatovat, že předložená dizertační práce je vysoce kvalitní a prokazuje nejen autorovu vědeckou erudici, ale i schopnost srozumitelným způsobem formulovat složitá vědecká fakta a hypotézy. Dizertační práce „**Virulence of Bordetella pertussis from an Omics Perspective**“ splňuje požadavky kladené na Univerzitě Karlově, Přírodovědecké fakultě na kvalifikační práci doktorského studia a jednoznačně ji doporučuji k obhajobě.

v Hostivici 31.5.2021



prof. RNDr. Jan Černý, Ph.D.