



RNDr. Veronika Obšilová, Ph.D.
Fyziologický ústav AVČR, v.v.i.
Oddělení Strukturní biologie signálních proteinů
Detašované pracoviště BIOCEV
Průmyslová 595
252 50 Vestec
Tel.: +420 325873513
Email: veronika.obsilova@fgu.cas.cz

Posudek oponentky na diplomovou práci:

Bc. Daniely Hávové
obor Buněčná a vývojová biologie, PřFUK v Praze

„Analysis of casein kinase γ function in model organism *Caenorhabditis elegans*“.

Ve své diplomové práci se Daniela Hávová zabývala analýzou funkce kasein kinázy 1 gamma v modelovém organismu *C. elegans* (CSNK-1), s cílem zjistit, jestli tato kináza hraje úlohu v kanonické Wnt/ β -katenin signální dráze a případně v jaké části této signální dráhy. Pro Wnt signalizaci u savců je důležitá fosforylace koreceptoru LRP5/6 kinázou CK1 γ . Homolog koreceptoru LRP5/6 se však v genomu *C. elegans* nenachází, proto celou motivací této práce bylo zjistit, zda CSNK-1 i přes chybějící koreceptor hraje úlohu ve Wnt signalizaci.

Daniela Hávová využila zavedený systém genetických analýz v *C. elegans* pro sledování aktivity Wnt dráhy. Nejprve se zaměřila na snížení exprese kinázy CSNK-1 pomocí metody RNA interference u několika mutantních linií hlístic a sledovala migraci QL neuroblastu. Následně se zaměřila na vliv overexprese CSNK-1 pod dvěma různými promotory asociovanými s kanonickou Wnt signální dráhou: *egl-17* a *egl-20* exprimované v buňkách rozličných částí a stádií hlístice (vulva, rectum, L1 a L4 stadium). V dalších experimentech Daniela Hávová sledovala zda CSNK-1 ovlivňuje QL polarizaci neuroblastů a v neposlední řadě pak optimalizovala podmínky pro auxin indukovanou degradaci. Výsledky této zevrubné charakterizace nevedly k jednoznačným výsledkům, nicméně budou prospěšné pro následné pokusy zabývající se přesnou a tkáňově specifickou regulací exprese CSNK-1.

Předkládaná diplomová práce ukazuje, že autorka získala řadu originálních poznatků a velmi dobře zvládla celou plejádu technik práce s hlísticí *C. elegans*: přípravu stabilních linií pod dvěma různými promotory, metodu RNA interference, přípravu plasmidů pro overexpresi CSNK-1 pomocí Gibsonova klónování, migrační experimenty QL neuroblastu, auxinem indukovanou degradaci a konečně i techniky optické mikroskopie pro vizualizaci hlístic (mikroskopie diferenciálního interferenčního kontrastu a fluorescenční mikroskopie).

Práce má standardní členění (literární úvod, cíle, materiál a metody, výsledky, diskuze), je napsána přehledně, pečlivě a výsledky jsou názorně prezentovány. Diskuse získaných výsledků je podrobná ke každému dílčímu cíli. Citace použité literatury je také adekvátní, práce obsahuje více než 100 citací. Úroveň angličtiny je dle mého názoru dobrá, občas se vyskytují drobné neobratnosti. K formální podobě anglicky psané práce mám jedinou připomínku, kterou je absence stručného a jasného závěru, který by v bodech shrnoval vytyčené cíle. V seznamu zkratk je chybně uvedena zkratka pro LIN-44 jako *C. elegans* homologu lidského LRP5/6.

K předkládané diplomové práci mám jen několik drobných otázek do diskuse:

1. Můžete objasnit funkci pěti WNT ligandů *C. elegans* *cwn-1*, *cwn-2*, *lin-44*, *egl-20* a *mom-2* v rámci WNT signalizace?
2. Jakým způsobem je spouštěna Wnt signalizace u *C. elegans* pomocí Frizzled receptorů MIG-1, LIN-17 a MOM-5?
3. Pomocí metody RNAi jste dostala nejednoznačné výsledky. U obrázku 7, str. 30 uvádíte, že všechny mutantní kmeny mají signifikantní vliv na QL fenotyp. Můžete prosím komentovat výsledek pro mutantní kmeny *mtm-9*, a *mtm-6* které se zdají být méně významné nežli pro *vps-29*?
4. V návaznosti na diskuzi k AID systému na str. 42 představte jiný způsob, jak ověřit působení *csnk-1* ve Wnt přijímací buňce?
5. Dá se z Vaší práce usoudit, jakou má úlohu CSNK-1 ve Wnt signalizaci u *C. elegans*? Je například známo, jestli fosforyluje nějakou jinou komponentu Wnt signální dráhy?

Závěrem konstatuji, že Daniela Hávová ve své diplomové práci splnila všechny vytyčené cíle a demonstrovala schopnost samostatné vědecké činnosti. Předložená diplomová práce splňuje všechny požadavky kladené na diplomovou práci a plně ji doporučuji přijmout k obhajobě a hodnotit známkou chvalitebně.



RNDr. Veronika Obšilová, PhD.
Fyziologický ústav AV ČR, v.v.i., BIOCEV
7. září 2020