

## Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky : **Bc. Kristýna Zavadilová**

Název práce: Úloha fosfatidylinositol-4-fosfát 5-kinázy PPK-1 v regulaci signální dráhy proteinu Wnt u *Caenorhabditis elegans*

**A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce (označte právě jednu z možností)**

1. Rozsah DP a její členění	
<input checked="" type="checkbox"/>	A - přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí
<input type="checkbox"/>	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
<input type="checkbox"/>	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
<input type="checkbox"/>	<b>N - nedostatečné</b>

2. Odborná správnost	
<input checked="" type="checkbox"/>	A - výborná, bez závažnějších připomínek
<input type="checkbox"/>	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
<input type="checkbox"/>	C - uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami
<input type="checkbox"/>	<b>N - nevyhovující, s hrubými chybami</b>

Z.K.

### 3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů

X	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
	B - uspokojivé, s občasnými neobratnostmi zejm. v umístění odkazů, nebo s celkově nižším počtem citací
	C - s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, přednášky, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat
	<b>N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)</b>

### 4. Jazyk práce

X	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
	C - upokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
	<b>N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami</b>

### 5. Formální a grafická úroveň práce

X	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo četnějšími drobnými chybami
	<b>N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami</b>

Komentář k bodům 1. až 5. :

#### **Bod 1** Rozsah DP a její členění

Rozsah práce odpovídá nejvyšším nárokům na diplomovou práci.

#### **Bod 2** Odborná správnost

Odborně, technicky a metodicky má práce vynikající úroveň.

Z.K.

### **Bod 3** Uvedení použitých literárních a j. zdrojů

Uvedené literární zdroje jsou vybrány velmi správně s důrazem na použití primárních zdrojů. Práce má v tomto ohledu mimořádně dobrou úroveň.

**Bod 4** Jazyk práce. Práce je psána velmi dobrou češtinou a její převážné části jsou vynikající z jazykového hlediska.

Otázkou osobní preference, nikoliv jazykové správnosti, je použití frází (myšleno lingvisticky) typu:

... něco se udělalo ...

... organismy *C. elegans* se přenesly ...

Adjektivum anterior je na minimálně dvou místech použito jako substantivum ("... Wnt mutovaný, tak PVM migruje směrem **k anterioru** místo posteriorním směrem, což se označuje jako fenotyp QL.")

Může jít o osobní preferenci oponenta, nicméně přísně vzato jsou použité obraty jazykově nesprávné.

### **Bod 5** Formální a grafická úroveň práce

Formálně a graficky má práce vynikající úroveň.

### **Celkové hodnocení**

Práce má vynikající úroveň a splňuje nejpřísnější požadavky kladené pro úspěšnou obhajobu diplomové práce.

Práce má další kvality, které ji řadí mezi velmi významné primární vědecké zdroje. Metodiky jsou na světově vynikající úrovni a jsou velmi dobře a jasně popsány.

Vědecká část práce má vynikající úroveň.

Výsledky jsou popsány velmi dobře a jsou velmi správně interpretovány.

Výzkumná práce si klade za cíl pochopit zapojení *ppk-1* (fosfatidylinositol-4-fosfát 5-kinázy, PIP5K) v modelovém organismu *C. elegans*. To se autoři pokusili zjistit:

Z.K.

1. snížením funkce PPK-1 za použití RNA interference v organismech s normální a částečně inhibovanou regulací Wnt,
2. experimentálně navozenou nadprodukcí PPK-1,
3. zvýšenou degradací PPK-1 v buňkách produkujících Wnt signál a v buňkách přijímajících Wnt signál, kterou se pokusili navodit řízeným způsobem ve specifických buňkách pomocí označení PPK-1 degenem (za využití specifické rekombinace metodou CRISP/Cas9).

Ve dvou směrech interpretují autoři výsledky jako negativní.

První je skutečnost, že prokázaná nedměrná exprese PPK-1 nevedla k očekávanému efektu v modulaci přenosu Wnt signálu.

Druhou je pak neúspěch pokusů o vytvoření linie s editovaným *ppk-1*.

Oba dva popisované výsledky však mají pravděpodobně biologicky významné příčiny a nepředstavují jen technické nedostatky použité metody.

Diskuse diplomové práce je správně zacílena a je velmi dobře napsána.

U adaptorového komplexu AP2 (Adaptor related protein complex 2) by asi bylo vhodné přesné nomenklaturní označení, aby nedošlo k záměně s transkripčním faktorem AP-2 (TFAP2A (AP-2, AP2TF, TFAP2)).

Výjimečně by bylo možné navrhnout opravu některých jazykových obrátů (například "Níže fluorescenci MIG-5 jsme špatně detekovali již v negativní kontrole, proto usuzujeme, že je degradace účinná.).

Celkově jde o práci vynikající kvality.

Otázky k diskusi obhajoby diplomové práce:

1. Mohla by autorka diskutovat biologické důvody, které by mohly být funkčním důvodem dosavadního neúspěchu experimentů zaměřených na editaci *ppk-1* v oblasti kódující pro C-terminální úsek proteinu PPK-1? Jaká je evoluční zachovalost C-terminální oblasti PPK-1?

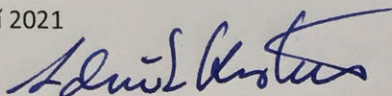
Může vložení degenonu v této oblasti ovlivnit funkci PPK-1?

Může se projevit efekt transientní nulové mutace, která nastává během editace genu metodou CRISPR/Cas9?

Z.K.

2. Jaké možnosti úpravy experimentálního přístupu by autorka navrhovala za účelem překonání možného chybní funkční PPK-1 v embryonálních buňkách během rekombinace závislé na CRISPR-Cas9 a případného sterického efektu degronu na protein PPK-1?

V Praze 9. září 2021



MUDr. Zdeněk Kostrouch, CSc.