

Oponentský posudek na diplomovou práci

Jméno oponenta: doc. RNDr. Daniel Rösel, PhD.

Autor: **Bc. Kristína Galvánková**

Název práce: **Funkčná charakterizácia signálnej dráhy ERK v epiteliálních bunkách**

Cílem práce Bc. Kristíny Galvánkové bylo analyzovat možné funkční rozdíly mezi ERK1 a ERK2 izoformami kinázy ERK. Za tímto účelem byl použit model MDCK buněčné linie s inaktivovaným ERK2 a následným „rescue“ re-expresí ERK2 nebo „replacement“ nadprodukcí ERK1.

Práce je psaná ve slovensky, což mi prakticky znemožnilo posoudit její jazykovou a částečně i slohovou kvalitu. Co mohu soudit, tak jako celek je formální úroveň textu nadprůměrná. I přes částečnou jazykovou bariéru jsem však identifikoval několik anglikanismů, u kterých předpokládám, že se ve slovenštině nepoužívají. Jedním z nich je např. sousloví „*prolín orientované proteínkinázy*“. Jazykovou zajímavostí je i to, že práce obsahuje 3 abstrakty a názvy, a to jak ve slovenštině a angličtině, tak z mého pohledu nadbytečně i v češtině.

Struktura práce je standardní. Kapitola úvod představuje velmi hezké shrnutí poznatků o biologii ERK signalizace. Jen závěrečná kapitola „Epitel“ do celkové logiky úvodu úplně nezapadá a hodilo by se ji doplnit nějakým propojujícím odstavcem.

Výsledková část je přehledná, obrázky jsou podrobně popsány v legendách a obsahují všechny nezbytné údaje. Závěrečná část výsledků popisuje na 2 stranách RNA-seq analýzu ERK2 KO linie. Považuji ji za zbytečně strohou a zasloužila by si větší rozpracování a prezentaci více dat. Navíc v diskuzi jsou zmíněny výsledky RNA-seq analýzy, které však nejsou ukázány (tento fakt je v diskuzi zmíněn). Předpokládám, že důvodem jejich neuvedení byla časová tíseň při psaní práce.

Diskuze má včetně závěrečného shrnutí 11 stran a považuju ji za zdařilou, ikdyž místy trochu více spekulativní, než by asi mělo ve striktní vědecké práci být. Osobně však toto nepovažuji za negativum.

Připomínky

V seznamu zkratk jsou uvedeny pouze anglické významy zkratk. Minimálně tam, kde se nejedná o vysvětlení zkratky genu/proteinu, ale o obecný pojem, by bylo vhodné uvést význam zkratky i ve slovenštině.

Obr. 5. šipka s popisem „*Aktivačná slučka*“ ukazuje na modře vyznačený DFG motiv. Aktivační smyčka je spíše až následující struktura s vyznačeným T185 a Y187.

Obrazovou analýzu „*viacjadrového*“ fenotypu by bylo vhodné doplnit cytometrickým potvrzením. Linie s tímto fenotypem jsou totiž výrazně plošší a větší než kontrolní buňky. Jejich geometrie tedy lépe umožňuje takový fenotyp mikroskopicky pozorovat než u kontrolních buněk.

Imunoblotové analýzy nejsou s výjimkou Obr. 10 denzitometricky kvantifikovány. S ohledem na nepřítomnost jasné kvantifikace a také toho, že většina těchto analýz byla provedena jen ve 2 nezávislých experimentech by měly být takové výsledky a jejich interpretace popsána trochu „opatrněji“. Ve většině případů se však lze s popisem takových výsledků plně ztotožnit, ale např. u popisu fosforylace c-Fos (Obr. 42) nelze bez statistické analýzy tvrdit, že v linii „*ERK1*

„Replacement“ k obnoveniu fosforylácie došlo“ zatímco v linii *„ERK2 „Rescue“ nebola obnovená fosforylácia c-Fos“*. V závěru kapitoly je zřejmé, že si je autorka vědoma technických problémů a je konstatováno, že *„popísané pozorovania preto považujeme za orientačné“*. Přesto by bylo vhodnější již výsledky popsat s ohledem na ty technické problémy a doplnit tvrzení třeba o vhodné příklady, které by vyjádřily určitou míru nejistoty těchto tvrzení.

Otázky

Byly v rámci RNA-seq analýzy ERK2 KO linie zjištěny nějaké změny exprese E-kadherinu, N-kadherinu, vimentinu a fibronektinu? Potenciální změny v expresi těchto proteinů dejte do souvislosti s možnou EMT.

Jaký je obecný vliv EGR1 transkripčního faktoru v EMT?

Ve své práci autorka využila velké množství metodických postupů a prokázala schopnost provádět komplexní experimenty, kriticky je hodnotit a výsledky uvádět do širších souvislostí. **Práce podle mě jednoznačně splňuje požadavky na diplomovou práci a navrhuji její přijetí.**

V Praze 25.8.2023

doc. RNDr. Daniel Rösel, PhD.