

Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele:
Mgr. Tereza Renzová, Ph. D.

Datum:
17. 5. 2025

Autor: **B.Sc. Kateryna Penkovska**

Název práce:

Studying a katanin-like protein as a potential sensor of glutamylation in a cell

Studium katanin-like proteinu coby potenciálního senzoru glutamylace tubulinu v buňce

Cíle práce

(Volně přeloženo z textu diplomové práce.)

Posoudit na základě předběžných výsledků, zda by katanin mohl sloužit jako geneticky kódovaný marker pro glutamylaci tubulinu v ciliární axonemě a tedy:

- 1) Kvantitativně posoudit a porovnat korelaci mezi signály kataninu a glutamylace tubulinu v ciliích.
- 2) Otestovat vztah mezi kataninem a glutamylací pomocí modulace úrovně glutamylace tubulinu.

Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran): 67 stran

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova? Abstrakt ANO, klíčová slova NE.

Je uveden seznam zkratk? ANO

Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO

Je napsán srozumitelně? ANO

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO

Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito? Více než deset různých metodických přístupů.

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

Experimentální část:

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? ANO

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky? ANO

Diskuze:

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO, ale vzhledem k tomu, že čtyři experimenty nepřinesly jasné nebo velmi přesvědčivé výsledky (ověření na dalších dvou buněčných liniích, expanzní mikroskopie, overexprese glutamyláz a jejich knockdown pomocí siRNA), bylo by přínosné zamýšlet se nad více možnými úpravami těchto experimentů do budoucna.

Závěry (Souhrn) :

Jsou výstižné? ANO

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Formální úroveň je velmi dobrá, především v její experimentální části.

Pouze v přehledu literatury se čtenáři místy hůře orientuje. Doporučila bych zde graficky rozlišit podkapitoly od kapitol (možná i kvůli tomu, že všechny úrovně nadpisů mají stejný font, došlo k chybě číslování kapitol (viz obsah - kapitoly 1.3. a 1.4. a 1.5., předpokládám měly být "1.3.4. a 1.3.5."). Dále by lepší srozumitelnosti pomohlo rozčlenit poslední kapitolu ("1.5.") na podkapitoly (takto vcelku na 5 stranách působí hutně). Příště bych se nebála přidat i více názorných obrázků, které by také čtenáři dále usnadnily orientaci v popisované problematice.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Cíle práce byly splněny, k ověření fungování kataninu jako axonemálního markeru sloužícího jako senzor glutamylace tubulinu bylo použito více různých přístupů.

Korelace glutamylace a kataninu (cíl 1) byla měřena pomocí kvantifikace signálu z IF a ExM. Pro manipulaci úrovně glutamylace (cíl 2) byla použita overexprese a siRNA knockdown příslušných enzymů.

Sice ne všechny přístupy vedly ke zdárnému potvrzení hypotézy, autorka ale navrhuje možná řešení a i v této formě se jedná o celkově kvalitně odvedenou práci s velkým počtem experimentů, dostačující pro splnění předpokladů diplomové práce. Práci s radostí doporučuji k obhajobě.

Otázky a připomínky oponenta:

1) Ohledně prezentace výsledků bych v případě obrázků z imunofluorescencí (IF) doporučila srovnat vedle sebe stejná cilia v různých kanálech a vždy přidat jejich "překryv" (overlay, merge), aby čtenář lépe viděl lokalizaci všech studovaných proteinů a vedle nich příslušnou kvantifikaci. Například obr.11 je mírně matoucí, protože graf ukazuje kvantifikaci alfa-beta tubulinu zatímco obrázky z IF acetylovaný tubulin a pouze v překryvu s katnal2i2.

2) Ráda bych se zeptala, jak přesně byla kvantifikace IF prováděna - v kapitole " 3.2. Methods " je popsáno jen velmi obecně dvěma větami (kap. 3.3., str.41). Signál byl tedy kvantifikován automaticky pomocí R softwaru nebo nejprve byla manuálně v ImageJ určena nějaká "linie", na které byl signál poté dále změřen v R softwaru?

Z textu (kap. 4.1.) je totiž hůře pochopitelné, proč je v některých kvantifikacích signál katnal2i2 i na dceřiných centriolách (obr. 10) a v jiných ne (obr. 11,14,16). Názorné ukázání vstupních obrázků a dané "linie" by jasně čtenáře přesvědčilo, že k rozdílným výsledkům vedl buď slabší signál protilátky (dceřinou centriolu nevidíme) nebo je to způsobeno měřením (linie byla nakreslena mimo dceřinou centriolu). Autorka vysvětluje absenci tohoto signálu v obrázku 16 buď slabším signálem katnal2i2 nebo kvůli zprůměrování dat. Mám

dojem, že mezi těmito dvěma příčinami by mělo být snadné rozhodnout, pokud uvidíme vstupní data:

3) Na jednotlivých grafech z kvantifikací k obr. 16 je tedy vidět více peaků katnal2i2, odpovídajících dceřině a mateřské centriole a ztratí se až průměrem? Nebo už na IF obrázcích není signál katnal2i2 na dceřině centriole vidět?

Zde přesvědčivosti prezentovaných dat opět ubírá fakt, že ke grafům nejsou uvedeny všechny (reprezentativní) vstupní IF obrázky studovaných proteinů (viz můj komentář č. 1).

4) Se závěrem kapitoly 4.1.1. "overall patterns of using markers in the IMCD3 line still reflect the previously noted correlation between katnal2i2 and tubulin monoglutamylation" je pro mě těžké souhlasit, pokud vyplývá pouze z uvedeného obrázku (obr.17) - zde bych řekla, že linie katnal2i2 (červená) odpovídá spíše acetylovanému tubulinu (fialová). Mohla byste to nějak blíže komentovat? Mohou třeba jednotlivé vstupní grafy ilustrovat korelaci lépe než jejich celkový průměr?

5) S tím souvisí také má další otázka: Zajímalo by mě, jak vypadají grafy jednotlivých cílů u ExM (obr.19), zda před jejich zprůměrováním není vidět lokalizace katnal2i2 a glutamylace v rámci jednoho cília lépe?

(Formální poznámka: Trochu matoucí je zde výměna barev pro jednotlivé protilátky oproti předchozím grafům.)

6) Plánujete v budoucnu nějaké další přístupy pro dosažení úspěšné overexprese TLL enzymů?

Návrh hodnocení oponenta

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis oponenta:

Tereza Růžičková