



Oponentský posudek na diplomovou práci

**Bc. Filip Knop**

Study of the role of selected endocytosis regulators in the Wnt signalling pathway

Diplomová práce Filipa Knopa se zabývá studiem vlivu kinázy sel-5 na endocytózu membránových komponent signální dráhy Wnt u hlístice *C. elegans*.

Práce je psána dobrou angličtinou, bez zbytečných chyb a překlepů. V rozsáhlém literárním úvodu je postupně čtenář doveden od obecných principů fungování Wnt signalizace, přes mechanismy regulace endocytózy až k specifickým Wnt signalizace v používaném modelovém organismu *C. elegans*. K úvodu mám jen dvě drobné výtky: 1) zkratka pro transkripční faktor (TF) se v práci objevuje jenom jednou – její uvádění je tedy zbytečné; 2) chybí zdroj, odkud byly převzaty obrázky 2 a 3. Pokud jsou vlastní prací autora, tak potom je nutno ocenit důkladné zpracování modelových schémat.

Jako cíl si autor v práci klade nalezení a popsání nových regulátorů endocytózy, jež se mohou podílet na fungování signální dráhy Wnt. V části materiálů s metod je popsáno celé spektrum technik práce s hlísticí *C. elegans*, jejichž podrobný popis dokládá, že si je autor při přípravě diplomové práce osvojil. Samotné výsledky práce vycházejí z původního screeningu školitelky, při kterém byla nalezena kináza sel-5 jako možný regulátor endocytózy. Pro ověření této hypotézy autor provedl sérii pokusů, popsané v logické posloupnosti, jimiž se snaží nalézt funkci sel-5 kinázy různými technikami. Většinou výstupem těchto postupů jsou grafy, které obsahují zejména proměrování penetrace QL fenotypu, vhodně doplněné i o názorná schémata, které tento jev popisují. K části výsledků mám jen jednu připomínku, a to že v sekci 4.3 je popsán pokus o ověření, zda funkce sel-5 není kompenzována příbuznou kinázou tag-257, výsledky ale nejsou ukázány. Text by měl alespoň obsahovat poznámku „data not shown,“ lépe by však bylo výsledky přímo ukázat.

Diskuze je zpracována obsáhle a podrobně. Na celé práci oceňuji její celkovou přehlednost, logičnost, množství citací (cca 135) a zejména detailně zpracované vysvětlení většinou negativních výsledků, které autor v práci ukazuje.

K práci nemám žádné větší připomínky, celkově ji hodnotím výborně a bez výhrad doporučuji k obhajobě.





### **Otázky a podněty do diskuze:**

Vps-29 je součástí retromerového komplexu, který vrací zpět do oběhu Wls v buňkách produkujících Wnt. Jak to, že se defekt v sel-5 kináze, u které se očekává úloha v buňkách odpovídajících na Wnt signál, projeví právě u hlístic s mutací vps-29? Je vysvětlením schéma: Méně Wls – méně Wnt ligandu – menší signál pro buňky stimulované Wnt – větší penetrace QL fenotypu?

V návaznosti na druhý odstavec diskuze na straně sedmdesát, představte návrh experimentu, který by dokazoval, že množství ligandu Wnt, který dosahuje na přijímací buňky, je regulováno endocytózou ligandu okolními buňkami.

V závěru práce je navržen experiment ověřující vliv sel-5 na stabilitu receptorů Wnt. Stabilita jakých přesně proteinů, by se dala sledovat? Bylo by vhodné podívat se případně na stabilitu/fosforylaci proteinu Dvl, který by také měl interagovat s  $\mu 2$  podjednotkou Ap2 komplexu? Jaké jsou technické/časové limitace tohoto návrhu?

V Brně 1.6.2016

Mgr. Bohumil Fafílek, PhD.

