

Oponentský posudek k disertační práci Mgr. Filipa Knopa:

Autor Mgr. Filip Knop ve své disertační práci zaměřené na neenzymatické vlastnosti kináz a fosfatáz předkládá 2 vědecké publikace, z nichž jedna prošla recenzním řízením a kde je spoluautorem, zatímco druhá je na platformě bioRxiv, kde figuruje jako první autor (v současné době v recenzním řízení). Obě publikace doplňuje množství nepublikovaných dat v sekci Výsledky. Dále se autor podílel na publikaci týkající se karboxypeptidáz, která však není součástí disertační práce.

Konkrétní činnosti Mgr. Knopa v publikacích:

Publikace č. 1: Provedl experimenty na kolokalizaci proteinů a obrazové zpracování na modelu tkáňových kultur, a přispěl k přípravě rukopisu.

Publikace č. 2: Většina experimentální práce, zpracování obrazů a dat, a zároveň příprava rukopisu. Dále se podílel na přípravě transgenního kmenu *in vivo* modelu *C. elegans* a technice mikroinjekce.

Stručné shrnutí tématu práce a jejích výsledků:

Předložená disertační práce přináší výsledky projektů, které zkoumají velmi zajímavé téma neenzymatických funkcí vybraných kináz a fosfatáz se zaměřením na signalizaci WNT. Autor využívá dlouhodobé zkušenosti pracoviště s modelem *Caenorhabditis elegans*. Tento *in vivo* model je aktuální a díky jeho výhodám v něm vidím výborné využití pro základní i klinický výzkum.

Aktuálnost tématu:

Nekinázová/neenzymatická aktivita kináz a fosfatáz, spolu s atraktivním modelem *C. elegans* a relevantní metodikou, jsou atraktivní a aktuální téma. Jsem mile překvapen získanými poznatky a vidím v nich velký potenciál, nicméně musím také konstatovat, že samotná disertační práce a její zpracování mě nezaujaly stejně intenzivně. Manuskripty jsou výborně zpracované po všech stránkách, nemám k nim žádné vážné výhrady, a proto se řečnický ptám, zda autor nevěnoval své disertační práci, zejména jejímu úvodu (viz níže), maximální pozornost.

Formální stránka:

Formálně je práce rozsáhlá (103 stran bez citací, 6 obrázků v úvodu a 10 obrázků s nepublikovanými výsledky), s angličtinou na velmi dobré úrovni. Minimální počet překlepů a vysoká jazyková úroveň mě potěšily. Měl jsem však nepatrné potíže s tzv. úvodními částmi (tzv. introductory elements), za kterými ve větě často chybí čárka (nejsem odborník na angličtinu, nicméně se domnívám, že se zde často se čárka očekává). Je důležité, aby tyto pasáže byly správně interpunkčně odděleny, což není jen estetická záležitost, ale i pro porozumění textu (internet je zdrojem příkladů, kdy čárka může měnit či pozměnit smysl věty). S ohledem na přiložené manuskripty je toto oddělení provedeno většinou správně. Jinak vše ostatní po formální stránce bylo na výbornou a nemám významných výhrad.

Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta

Oddělení fyziologie a imunologie živočichů

Kamenice 5, 625 00 Brno, Česká republika

T: +420 549 49 4465, E: harnos@sci.muni.cz, W: <https://www.sci.muni.cz/ofiz/harnos-lab/>

Komentář k jednotlivým aspektům práce, včetně připomínek k odborné stránce práce:

Úvodní část je podle mého názoru slabší, obtížně čitelná, což mě donutilo hledat další zdroje pro lepší porozumění (např. přiložené manuskripty). Autor se málo zaměřuje na popis klíčových témat práce, jako jsou neenzymatické funkce kináz, migrace u *C. elegans* a popis WNT dráhy u *C. elegans* (což jsou zásadní témata disertační práce). Naopak, úvod předkládaný autorem je příliš obecný, většina citovaných prací v úvodu pochází kolem roku 2000 a nepřinášejí nic nového ve srovnání s klasickou učebnicí. Úvod navíc působí spíše jako telefonní seznam znalostí bez ucelené logiky, přičemž v přiložených manuskriptech se tento problém již podle mého mínění neobjevuje a text je dobře čitelný a aktuální. Také doprovodné obrázky jsou zvoleny spíše z hlediska klasifikace a struktury a doprovodný text podle mého názoru zásadně neobohacují. Souhrnně vzato, úvod hodnotím nedotažený.

Na druhou stranu, část diskuze je mnohem lepší a čtivější, i když by bylo vhodné zúžit každou myšlenku do jednoho odstavce, aby bylo snadnější je absorbovat. Taky bych uvítal zahrnutí finálního schématu, které by shrnovalo dosažené výsledky grafickou cestou.

Nicméně celkově jde konstatovat, že autor je schopen kritického myšlení a tvorby vědeckého obsahu a textu na slušné úrovni.

Otázky a podněty k obhajobě práce:

- Existují v WNT signalizaci příklady kináz, které vykazují i nekinázovou funkci? Mohl byste prosím uvést některé příklady?
- V diskusi je naznačena role AAK1 kinázy v tzv. crosstalku se signalizací Notch. Mohl by autor tuto roli podrobněji popsat a ukázat více detailněji propojení mezi Wnt-Notch signalizacemi?
- Co se týče práce s MTMR9, mohl by autor navrhnout 1-2 experimenty týkající se metody tzv. live imaging, který by významně posunul daný obor? Předpokládejme neomezený rozpočet a lidskou kapacitu.
- Co plánujete udělat s nepublikovanými daty?
- Může autor relevantně spekulovat o tom, zda se během evoluce nejprve objevila kináza a poté pseudokináza (tj. "obyčejný" protein s nekinázovou aktivitou), nebo naopak? Jaký je váš názor na tento paradox „vejce-slepice“?

Závěrečné hodnocení:

Mgr. Filip Knop podle mého názoru prokázal vědeckou a tvůrčí samostatnost odpovídající získání titulu Ph.D., a proto doporučuji jeho práci k obhajobě. Je jen škoda, že nelze provést přepis úvodní části, který by umožnil lepší porozumění a snad i hlubší diskusi.

9. května 2024, v Brně



Mgr. Jakub Harnoš, Ph.D.
Odborný asistent