



Oponentský posudek dizertační práce Mgr. Jany Konířové:

„Funkce DISP3/PTCHD2 v neurálních buňkách“

Oponent: Ing. Miroslava Anděrová, CSc.

Předkládaná dizertační práce se zabývá objasněním funkce proteinu DISP3 jak v proliferaci a diferenciaci neurálních kmenových buněk, tak i v onkogenezi nádorů mozku. Podkladem této práce jsou výsledky vědecké činnosti Mgr. Jany Konířové získané během postgraduálního studia v Oddělení buněčné diferenciaci, Ústavu molekulární genetiky AVČR, pod vedením RNDr. Petra Bartůňka, CSc. Dizertační práce zahrnuje výsledky dvou impaktovaných publikací, u publikace v časopise *Scientific Reports* s IF 4,12 je Mgr. Konířová prvním autorem, v další impaktované publikaci (*FEBS Lett*, IF 3,17) je spoluautorkou; souhrnný IF všech publikací autorky je – 7,3. Výsledky dizertační práce Mgr. Jany Konířové významně přispívají k porozumění mechanismů regulace neuro- a gliogeneze, ale i vzniku mozkových nádorů.

Dizertace, obsahuje 195 stran, ke kterým jsou přiřazeny obě publikace v plném rozsahu. Práce je napsána srozumitelně a kultivovaným jazykem. Ve 23-stránkovém literárním úvodu jsou podrobně a srozumitelně popsány základní informace týkající se vývoje centrálního nervového systému obratlovců, vlivu SHH a WNT signální dráhy na vývoj CNS a vlastností neurálních kmenových buněk v CNS dospělého jedince. Dále se autorka v literárním přehledu zabývá i proteiny, které obsahují „sterol-sensing“ doménu a část úvodu je soustředěna na meduloblastomy a jejich podtypy. Literární úvod je založen na starších, ale i nejnovějších poznatcích v oboru, je citováno ~250 prací. Cíle práce jsou stanoveny konkrétně a přehledně. V metodické části (14 stran) autorka popisuje celou řadu metod, které k řešení daného tématu použila, např. kultivaci buněk *in vitro*, indukci diferenciaci *in vitro*, transfekce buněk, izolace RNA a qPCR, čipovou analýzu, Western blot, analýzu rychlosti růstu buněk, buněčného cyklu, buněčné senescence, apoptózy, imunohistochemie a příprava transgenických myší. V neposlední řadě i statistické vyhodnocení získaných výsledků. Z tohoto výčtu, ale i z prohlášení jenž se týká podílu autorky na jednotlivých publikacích, je zřejmé, že autorka zvládla celou řadu náročných technik v průběhu postgraduálního studia, včetně jejich vyhodnocování.

Získané výsledky jsou popsány na 66 stránkách, tato část je rozdělena do tří hlavních podkapitoly, z nichž první kapitola se zabývá modulací exprese genu *Disp3* v myších neurálních kmenových buňkách *in vitro* a její dopad na proliferaci, buněčný cyklus, senescenci, apoptózu buněk a jejich diferenciaci. Druhá část práce se zabývá úlohou tohoto proteinu v lidských nádorech mozku a výsledky ukázaly na nejvyšší míru exprese genu DISP3 v agresivních dětských nádorech mozku, především v meduloblastomech subtypu 4. Další analýza lidských meduloblastomových buněčných linií ukázala, že zvýšená exprese DISP3 zvyšuje rychlost růstu DAYO buněk (SHH typ meduloblastomu), zatímco mutace v genu DISP3 zpomaluje proliferaci buněk D341.

Na výsledkovou část navazuje diskuze, která má 11 stran. V diskusi autorka především rozebírá jednotlivé dílčí nálezy, koreluje své výsledky s literaturou a a závěrem diskutuje i možné biomedicínské aplikace, týkající se onkogeneze. V závěrech autorka shrnuje získané poznatky.

Z formálního hlediska je dizertační práce pečlivě sepsána a je nutno konstatovat, že jednotlivé obrázky přesně dokumentují dosažené výsledky a z hlediska grafického zpracování, jsou pečlivě provedeny. Mám pouze jednu výtku, která se týká nedostatečného definování zkratk a používání latinských názvů jednotlivých oblastí CNS. Některé zkratky jako např. FGF, BMP a MAPK se objevují v textu (viz. Úvod) bez jejich předchozího zavedení, následně je FGF zavedena o několik stran dále. Latinské názvy oblastí CNS by měly být vždy psány *Italic*, pokud to bylo takto zavedeno.

V dizertační práci mě zaujala celá řada faktů/výsledků a na jejich základě mám několik otázek.

1. V úvodu autorka zmiňuje úlohu kanonické Wnt signalizační dráhy v proliferaci/diferenciaci neuálních kmenových buněk; moje otázka směřuje k tomu, zda existují nové nálezy týkající se úlohy některé z non-kanonických Wnt signalizačních drah v neuro- či gliogenezi, mám na mysli „Wnt planar cell polarity a Wnt/Ca²⁺ signalizační dráhy“.
2. Jakou má autorka představu o inter-komunikaci Shh a Wnt signalizačních drah ve vývoji CNS a neuro- a gliogenezi dospělého CNS. Jakou úlohu hraje/by mohla hrát tato komunikace např. u popisovaných neurogenických zón (SVZ a SGZ).
3. V současné době rozeznáváme 4 základní neurální buněčné typy, kam byste zařadila NG2 gliové buňky a co víte o jejich funkci v gliogenezi v dospělém CNS?
4. V případě diferenciace *in vitro* hovoříte o neuro- a gliogenezi. Máte představu jaké typy neuronů vznikají, případně jaké jsou jejich funkční vlastnosti?
5. Na straně 56, obrázek 17C dokumentuje relativní exprese genů *Disp3*, *Nes*, *Gfap*, *Tubb3* a *Plp1*. Jaký byl důvod pro spojení neuronů a oligodendrocytů do jednoho sloupcového grafu, přece jen se jedná o poměrně odlišné buněčné typy? Porovnávali jste expresi *Plp1* a *Tubb3* v oligodendrocytech a neuronech?

Dizertační práce Mgr. Konířové je velmi aktuální a odpovídá současným směrům rozvoje oboru. Má vysokou odbornou i jazykovou úroveň a obsahuje mnoho zajímavých a v řadě případů i prioritních výsledků, které byly publikovány v časopisech s velmi dobrým impakt faktorem. Celá práce je velmi pečlivě napsána.

Mgr. Konířová prokázala, že je připravena k samostatné vědecké práci a podložila tuto skutečnost velmi dobře vypracovanou dizertací, jejíž výsledky přinášejí další cenné poznatky o vývoji CNS. Obě publikace v odborných časopisech s IF splňují počet prací k obhajobě požadovaný. Doporučuji tedy tuto dizertační práci k obhajobě.

V Praze, 25.8.2018

Ing. Miroslava Anděrová, CSc.
Ústav experimentální medicíny, AV ČR