

Oponentský posudek diplomové práce Bc. Zuzany Vondrákové (2019)

Název práce: Role Rnf207b v hematopoéze *Danio rerio*

Magisterská práce Bc. Zuzany Vondrákové se zabývá objasněním úlohy RING finger proteinu 207b (kódovaný genem *rnf207b*) v krvetvorbě, zejména v trombopoéze a erytropoéze, *Dánia pruhovaného*.

Hodnocení výsledků z hlediska tvůrčího přínosu

Práce navazuje na projekt mapující evolučně konzervované regulátory erytropoézy a trombopoézy obratlovců. Cílem diplomové práce bylo popsat doposud neznámou úlohu Rnf207b v regulaci hematopoézy u *dánia pruhovaného*. Projekt byl zaměřen na analýzu tkáňově specifické exprese Rnf207b a hodnocení biologického efektu změny exprese studovaného genu na vývoj hematopoetické linie v in vivo modelu. Práce byla zaměřená na, doposud ne příliš probádané, aspekty molekulárních mechanismů hematopoézy obratlovců.

Formální kvalita předložené diplomové práce a hodnocení jednotlivých částí

Diplomová práce má 96 stran, je psána česky a tvoří ji všechny náležité kapitoly. Práci nelze po formální ani jazykové stránce nic závažného vytknout. Kladem práce jsou přehledně popsané a graficky výborně zpracované obrázky a schémata.

Úvod a přehled literatury

Jsou přiměřené rozsahem a jsou důkazem toho, že autorka je s problematikou dobře seznámena. V úvodu autorka přehledně popisuje předběžné výsledky, ze kterých vychází hypotéza a cíle diplomové práce. Přehled literatury uceleně shrnuje dosavadní poznatky v oblasti vývoje hematopoézy u *dánia pruhovaného* a srovnává je s jednotlivými vývojovými stadii hematopoézy u člověka a ostatních savců. Prezentuje současné hypotézy diferenciac kmenových buněk a progenitorů do jednotlivých hematopoetických linií. Popisuje jednotlivé hierarchické modely hematopoézy a možnosti využití *dánia pruhovaného* jako modelu pro studium hierarchie a migrace hematopoetických buněk. Zabývá se také strukturou a funkcí studovaného genu Rnf207 u vybraných obratlovců. Tuto kapitolu vhodně doplňují přehledná schémata a obrázky, které usnadňují orientaci v popisované problematice.

Cíle práce

Hypotéza a cíl diplomové práce jsou definovány jasně.

Metodická část

Metody experimentů jsou popsány srozumitelně, v logickém sledu a s přehledem, který svědčí o tom, že Zuzana Vondráková dosáhla přiměřeného stupně laboratorních dovedností. Je zde jasně popsán způsob získávání vzorků, media, primery, pufrů a další chemikálie. Autorka detailně popisuje rozsáhlou škálu laboratorních metod (např. izolace RNA, reverzní transkripce, PCR, elektroforéza nukleových kyselin, mikroinjekce do fertilizovaných vajíček, benzidínové barvení na prokázání hemoglobinu, bioinformatické analýzy a další).

Výsledky

Výsledková část práce je členěna do dvou podkapitol. Je přehledná a přesvědčivě dokazuje, že autorka je schopna jasně popsat své výsledky. V první části se autorka analyzuje expresi genu *rnf207b* na mRNA úrovni v jednotlivých tkáních dospělých danií (starších 3 měsíců) a vývojově specifickou expresi genu od 5 hodin po fertilizaci (5 hpf, stadium gastruly) až do věku 34 dní po fertilizaci (34 dpf, juvenilní jedinec s "dospělou" hematopoézou). Ve druhé části autorka popisuje výsledky získané při funkční postranskripční inaktivaci *Rnf207b* pomocí mikroinjekcí morfolino oligonukleotidů, včetně cenných výsledků získaných při metodické přípravě experimentů.

Diskuze, souhrn a seznam použité literatury

V diskuzi autorka kriticky hodnotí získané výsledky a konfrontuje je se současnou úrovní znalostí studované problematiky. Hodnotí přednosti a nedostatky předložené studia a nastiňuje další možnosti rozvinutí studovaného tématu. Hlavní výsledky práce jsou na závěr přehledně shrnuty. Práce je opatřena přibližně stovkou přiléhavě volených citací. Rozsah a výběr citací odpovídá celkové výborné kvalitě práce.

Dílčí připomínka:

V sekci 4.1.2 Roztoky a pufrů je není uveden předpis na 60x E3 medium/vodu, ale na 1x E3 medium/vodu.

Závěr

Diplomová práce dokazuje výbornou teoretickou připravenost autorky na poli studované problematiky. Autorka prokázala patřičné laboratorní dovednosti, schopnost získat smysluplná data, přehledně je prezentovat, konstruktivně a kriticky je hodnotit. Přináší původní výsledky, které mohou přispět k rozšíření znalostí o vývoji a mechanismech regulace hematopoézy u obratlovců. Doporučuji přijetí práce Bc. Zuzany Vondrákové jako podkladu pro udělení akademického titulu „Magistr“.

Doplňující dotazy:

Erytropoéza je do určité míry regulovaná hypoxií. Jak podstatný má vliv hypoxie na erytropoézu u Dánia pruhovaného, případně jiných ryb?

Exprimují hematopoetické buňky iontový kanál KCNH2/HERG a je známá jeho úloha v hematopoéze, případně buněčné proliferaci a diferenciaci?



Praha 3. září, 2019

Doc. MUDr. Jan Živný, Ph.D.
Ústav patologické fyziologie
1. lékařská fakulta
Univerzita Karlova