



Oponentský posudek na dizertační práci

Dizertační práce Mgr. Michaely Bendové (Starostové) „Genová exprese v kuřecím embryu: mikromanipulační a vizualizační metody“ je předložena v dlouhé verzi a je založena na dvou impaktovaných publikacích. První z nich je prvoautorská (Starostova et al., 2014) a je otištěna v časopise Gene (IF = 2,319). Druhá je pak spoluautorská (Antošova et al., 2016) a vyšla v PLoS Genetics (IF = 5,540). Je škoda, že k dizertační práci nejsou tyto publikace připojeny ve formě přílohy.

Dizertační práce se skládá ze dvou oddílů, které víceméně kopírují náplně obou výše uvedených publikací. První část je věnována výzkumu diferenciaci buněk neurální lišty na melanocyty s přispěním onkoproteinu v-myb. Druhá část pak řeší vztahy mezi expresí proteinu Pax6 a Meis1 a Meis2 při vývoji čočky. Spojovacím článkem obou oddílů je použití kuřecího modelu a využití mikromanipulačních, mikroinjekčních a elektroporačních technik. Práce je standardně členěna, citelně však zde chybí jasné uvedení vědeckých hypotéz, proč je výzkum, který autorka prováděla zajímavý a jaké si klade otázky. Jakási koncentrace autorky na metodický aspekt místo řešení vědeckých otázek se prolíná celou prací. Dobře je to patrné na kapitole Výsledky, kde na 12 stranách jsou znovu popisovány metodické postupy (mikromanipulace, mikroinjekce, elektroporace atd.), které již byly vysvětleny v kapitole materiál a metody. Vlastní výsledky z obou publikací pak tvoří menší část. Svou koncepcí tak dizertační práce spíše připomíná diplomní projekt, ač uznávám metodicky velmi bohatý a náročný.

Diskuze je podle mého názoru velmi problematická. Opět, již po třetí, zde autorka shrnuje a vysvětluje metodická úskalí využitých metodických přístupů. Spíš, než diskuzi kapitola připomíná autorčinu reflexi a porovnání vlastních výsledků s publikacemi jiných autorů je zde poměrně málo zastoupeno. Asi největší výhrady mám k literárnímu přehledu, kde jsou uvedeny velmi hrubé nepřesnosti a zavádějící informace týkající se kuřecího embryonálního vývoje, resp. osudu hypoblastu a vzniku extraembryonálních obalů (str. 31: „Všechny tři zárodečné listy se budou vyvíjet pouze z epiblastu, zatímco z hypoblastu se vyvinou membrány a obaly vč. žlutkového vaku“. Vrcholem je tvrzení, že pokožka je derivátem somitu (str.32:“ Ze somitů se vyvíjí pokožka, kosterní svalstvo, chrupavky, šlachy a obratle.“). Taktéž česká terminologie některých embryonálních struktur je nesprávná: primitivní drážka je správně primitivní proužek, notochord je



anglický výraz pro chordu. Taktéž tungstenová jehla je správně česky wolframová jehla. Latinské názvy, jako například *area pellucida* jsou nesprávně skloňovány (*arey pellucidu*).

Autorka na druhou stranu odvedla obrovské množství experimentální práce, zavedla náročné mikroinjekční, mikromanipulační a elektroporační techniky na kuřecím modelu a velkou měrou tak přispěla ke vzniku obou vědeckých publikací. I když mé výhrady jsou mnohdy zásadního charakteru, přes to doporučuji práci přijmout, jako práci dizertační a udělit studentce akademický titul PhD za jménem.

K dizertační práci mám následující otázky:

- 1) Jaký je mechanismus antagonismu mezi proteiny Gremlin2 a BMP4?
- 2) Kde je Gremlin2 v embryu produkován?
- 3) Exprese Pax6 není omezena pouze na čočku, ale také je aktivní při vývoji neurální trubice či pankreatu. Jakou (pokud vůbec) roli hrají enhancerové elementy SIMO v těchto strukturách?
- 4) Meis2 je také důležitý při vývoji neurální lišty v hlavové oblasti. Existuje vazba mezi tímto proteinem a proteiny Gremlin2 a BMP4?

V Praze dne 27.8.2019

Doc., RNDr., Ing. Vladimír Krylov, Ph.D.