



ÚSTAV ŽIVOČIŠNÉ FYZIOLOGIE A GENETIKY, v.v.i.

Akademie věd ČR

doc. RNDr. Marcela Buchtová, Ph.D.

## Posudek oponenta dizertační práce

Student: **Mgr. Jan Štundl**

Název práce: **Analýza buněk neurální lišty a raného kraniofaciálního vývoje vybraných zástupců paprskoploutvých ryb**

Studijní program: **Zoologie**

Práce se zabývá studiem migrace buněk neurální lišty v kraniofaciální oblasti u nižších obratlovců s cílem hlubšího pochopení embryonálního původu kraniofaciálních struktur. Dizertace kombinuje přístupy klasické embryologie a vývojové biologie s moderními molekulárními metodami. Studie byla provedena na několika modelových druzích, a to u bichira senegalského, jesetera malého, kostlina mexického a štiky obecné. Tyto druhy představují unikátní možnost sledovat migrace buněk neurální lišty i druhů se zcela odlišnými kraniofaciálními morfotypy. Využití tohoto vyjimečného embryologického materiálu umožnilo bližší pochopení evoluce kraniofaciálních struktur a autor získal možnost svá pozorování představit v kontextu širších evolučních vztahů. U bichira, kostlina a štiky se podařilo odhalit časnou migraci buněk neurální lišty podílející se na formování hyoidního oblouku. Tato raná migrace druhého faryngeálního oblouku přispívá k formování specifických struktur jako je například operkulum či vnější žábry.

Předložená dizertační práce má standardní členění vědecké práce. Její součástí jsou tři manuskripty, z nichž jeden je prvoautorský, jeden spoluautorský a jeden na pozici korespondujícího autora. Články již prošly oponentním řízením a dva jsou publikovány v prestižních časopisech, které již samy o sobě svědčí o vysoké kvalitě získaných výsledků a aktuálnosti studované problematiky.

Jednotlivé použité metody jsou detailně popsány v samotné práci i v příložených člancích. Byly provedeny analýzy proteinové exprese s využitím markerů buněk neurální lišty, Dil *in vivo* značení buněk umožňující sledovat jednotlivé proudy migrujících buněk neurální lišty. Dále byla provedena *in situ* hybridizace pro analýzu exprese markerů neurální lišty či genů charakteristických



ÚSTAV ŽIVOČIŠNÉ FYZIOLOGIE A GENETIKY, v.v.i.

Akademie věd ČR

doc. RNDr. Marcela Buchtová, Ph.D.

pro jednotlivé sledované stuktury. SEM a MicroCT vizualizace pak umožnila zobrazení vztahů entodermu a vyvíjejících se externích žaber vzhledem k okolním strukturám v 3D.

Cílem dizertační práce bylo jednak detailně analyzovat informace o iniciaci jednotlivých proudů migrujících buněk neurální lišty v kraniofaciální oblasti, popsat vývoj derivátů druhého faryngeálního oblouku u modelových druhů bazálních paprskoploutvých ryb, zavést nový experimentální model do laboratoře a porovnat vývoj neurální lišty s jinými obratlovci. Všechny vytýčené cíle byly splněny.

Práce je psána stručně, lehce a srozumitelně s logickou návazností, což svědčí o skvělé orientaci studenta v daném tématu. Dizertace je doplněna bohatou a názornou obrazovou dokumentací i přehlednými schématy, které jasně sumarizují získané výsledky a mezidruhové rozdíly. Výsledky projektu prošly oponentským řízením a byly publikovány v prestižních vědeckých časopisech, což poukazuje na jejich význam a přínos na poli vývojové biologie.

#### Doplňující otázky:

- U raných kuřecích embryí (HH15) je možné rovněž pozorovat akceleraci druhého faryngeálního oblouku ve srovnání s prvním. Jak byste tuto skutečnost vysvětlil?
- Můžete bližší diskutovat, proč nepovažujete prominentní vývoj druhého faryngeálního oblouku za původní stav, ale za heterochronii?
- Mohl byste bližší diskutovat v rámci obhajoby rozdíly v podílu NCC z jednotlivých rhombomer do prvního a druhého faryngeálního oblouku u různých druhů obratlovců?
- Proč u jesetera nemigrují buňky druhého faryngeálního oblouku dříve? Může docházet k inhibici jejich migrace?
- Na obrázku SOX9 exprese (Obr. II) jsou zřetelné rozdíly výskytu exprese tohoto genu u kostlína a štiky. U těchto druhů je v raných stádiích vidět jen jedna expresní doména,



ÚSTAV ŽIVOČIŠNÉ FYZIOLOGIE A GENETIKY, v.v.i.

Akademie věd ČR

doc. RNDr. Marcela Buchtová, Ph.D.

v případě kostlína mandibulární a v případě štiky hyoidní. Je zajímavé, že u kostlína tedy nedochází k dřívější migraci buněk z mandibulární domény. Lze to nějak vytvrdit?

- Mohl byste Vaše nálezy o formování vnějších žaber uvést do kontextu s dříve publikovanými nálezy u axolotla?
- Nedocházelo po aplikaci SU5402 k indukci apoptózy v oblasti entodermu? Rovněž velikost cementových žláz se zdá být redukována. Nedochází k nespecifické poruše růstu těchto struktur ovlivněním buněčné dynamiky? Mohl byste navrhnout elegantnější experiment na specifické cílení entodermu druhého oblouku?

Celkově lze konstatovat, že předložená práce řeší aktuální problematiku a přináší zcela nové poznatky o migraci buněk neurální lišty a s tím souvisejících vývojových procesech podílejících se na formování kraniofaciální oblasti. Předložená práce tedy splňuje všechny formální požadavky kladené na dizertační práci a přiložené manuskripty výrazně překračují nároky na dokončení PhD programu. Navíc student jasně prokázal nejen schopnost samostatné vědecké práce, ale i vedení mladších studentů, včetně jejich směřování k dokončení samostatné publikace, jak ukazuje pozice korespondujícího autora na jedné z prací, což svědčí o potenciálu kandidáta pro vedení vlastního výzkumného týmu v budoucnosti.

Na závěr velice oceňuji schopnost zajímavě podat danou problematiku, vysokou kvalitu doprovázející fotodokumentace a plně doporučuji přijetí této dizertační práce k obhajobě.

  
\_\_\_\_\_

V Brně dne 20. 9. 2019

doc. RNDr. Marcela Buchtová, Ph.D.