

## POSUDEK OPONENTA DIPLOMOVÉ PRÁCE:

### “Identifikace změn membránových vlastností astrocytů u myšího modelu amyotrofické laterální sklerózy” vypracované

Bc. Ondřejem Vaňátkem

---

Předložená diplomová práce Bc. Ondřeje Vaňátka byla vypracována v oddělení buněčné neurofyziologie Ústavu experimentální medicíny AV ČR pod vedením Mgr. Jany Turečkové, Ph.D. Práce se zabývá charakterizací rozdílů v membránových vlastnostech astrocytů u myšího modelu amyotrofické laterální sklerózy, zejména z hlediska porovnání elektrofyziologických vlastností specifických podtypů draslíkových iontových kanálů.

#### Struktura a formální úroveň práce a splnění cílů práce

Práce je přehledně uspořádaná, rozsahem přiměřená, relevantně dokumentovaná obrázky, logicky promyšlená a je psána v anglickém jazyce přesným a stylisticky přímočarým stylem. Členění práce o rozsahu 96 stran je standardní, zahrnující všechny požadované části. Přibližně 250 odkazů na literaturu považuji vzhledem k rozsahu tématiky a množství experimentálních aspektů za relevantní. Práce obsahuje minimum formálních chyb (jen náhodně nalezené a zcela nepodstatné např. na str. 24, ř.19, „These two forms are ...“, str. 25, ř. 4, „...subunits form dimer ...“, str. 26, ř. 11, „... homomer or heteromer...“, ř. 5 zdola, „... the function of astrocytic.“, str. 27, ř.1-2, „type of a K<sup>+</sup> channel.“, „...induces an increase.“, str. 37, ř. 6, „... Flaming/Brown.“, str. 60, chybí legenda k panelům (C,F) v obr. 21, str. 62, legenda k obr. 22, chybí definice proudu K<sub>A</sub>.)

Cíle práce jsou formulovány na str. 39 ve formě dvou hlavních hypotéz a cílů: 1. Vytvoření a fenotypizace linie dvojité transgenních myší představující model amyotrofické laterální sklerózy s cílem fluorescenčně označit astrocyty pro jejich identifikaci v experimentech in vitro. Tato část zahrnuje behaviorální a molekulárně biologické experimenty ověřující funkční zachování původního fenotypu. Druhým, neméně důležitým cílem práce bylo porovnání elektrofyziologických vlastností identifikovaných astrocytů motorické oblasti mozkové kůry. Vytyčené cíle práce jsou jednoznačně splněny a přinášejí nové zajímavé poznatky v oboru. Výsledky zaměřené na vytvoření a fenotypizaci myšího modelu jsou prezentovány v rozsahu 20 stran o 14 obrázcích. Druhá část výsledků je prezentována v rozsahu 5 stran o třech obrázcích a tabulce shrnujících úctyhodný objem dat získaných elektrofyziologickou technikou patch-clamp (na ~70 astrocytech).

#### Vlastní vědecký přínos práce

Autorovi se podařilo získat originální výsledky, které bezesporu svědčí o vědecké kvalitě a aktuálnosti řešené problematiky, a je zřejmé, že v průběhu studia získal bohaté zkušenosti samostatně a tvůrčí vědecké práce. Vysoce hodnotím systematickост autora a přímočarost při řešení experimentálních otázek. Zejména bych chtěla ocenit skutečnost, že diplomová práce ve svém celku představuje metodicky ucelenou studii specificky zaměřenou na vývoj a funkční ověření transgenního modelu, který bude jistě využit i v budoucích studiích zaměřených na výzkum úlohy astrocytů v amyotrofické laterální skleróze.

Studium buněčných mechanismů rozvoje amyotrofické laterální sklerózy představuje jeden ze závažných aktuálních směrů biomedicínského výzkumu. Navzdory intenzivní snaze mnoha

výzkumných týmů nejsou příčiny tohoto neurodegenerativního onemocnění dosud dostatečně objasněny. Biochemické a biofyzikální přístupy a vyhledávání relevantních zvířecích modelů představují nezbytný krok k identifikaci funkčně významných mechanismů, které mohou nabýt potenciálně důležitý význam při včasné diagnostice a potenciálních možnostech účinné regulace rozvoje tohoto progresivního, fatálního onemocnění u lidí. Není proto pochyby, že zvolené téma dizertační práce je aktuální a závažné a předložená práce přináší nové poznatky.

### **Závěr:**

V souhrnu konstatuji, že předložená práce Bc. Ondřeje Vaňátka prokazuje zvládnutí náročné odborné tematiky a splňuje obsahové náležitosti diplomové práce. Autor navíc prokázal schopnost kritického posouzení formulovaných hypotéz a schopnost samostatné a tvůrčí vědecké práce. Práci proto plně doporučuji k obhajobě.

V Praze, 9. září 2020

Viktorie Vlachová  
Fyziologický ústav AV ČR  
Videňská 1083  
142 20 Praha 4 – Krč

### **Námět pro rozpravu:**

1. Autor využívá animální model založený na mutaci G93A v genu pro SOD1. Jsou známy jiné mutace silně asociované s výskytem amyotrofické laterální sklerózy u lidí? Jak jsou distribuovány v rámci proteinu? Je známo, že správná funkce SOD1 strukturně závisí na dvou důležitých kličkách, tzv. elektrostatické a druhé, která váže Zn(II). Jsou známy nějaké teoretické studie zaměřené na odhalení mechanismu vlivu mutace G93A na molekulární úrovni (například metodami simulace molekulární dynamiky)?
2. Výsledková část prokazuje vysoce sníženou membránovou kapacitanci astrocytů u GFAP-SOD1 myši oproti kontrole. Pozoroval autor nějaké zřetelné morfologické rozdíly mezi těmito dvěma typy astrocytů? V části metod autor zmiňuje způsob stanovení membránové kapacitance. Jakým způsobem je odvozena tato hodnota protokolem “Lock-In” v programu PatchMaster?