

## **Oponentský posudek na magisterskou práci: Aneta Wróblová (2020)**

Studium regeneračního potenciálu progenitorů Sertoliho buněk u pulců *Xenopus tropicalis* po amputaci ocasu

Study of regenerative potential of Sertoli cell progenitors in *Xenopus tropicalis* tadpoles after tail amputation

Magisterská práce Anety Wóblové se zabývá problematikou regenerace amputovaného ocasu u pulců *Xenopus tropicalis* a vliv buněk odvozených z progenitorů Sertoliho buněk (XtiSC) na regenerační proces. Práce obsahuje velké množství kvalitních a dobře zpracovaných dat a je patrné velké nasazení studentky v rámci výzkumné práce v laboratoři Vývojové biologie.

### **Formální stránka diplomové práce**

Diplomová práce je psána v českém jazyce. Psaný text obsahuje vzácně drobné překlepy a chyby v interpunkci, nicméně gramatické chyby nepovažuji za významné. Literární zdroje jsou citovány správně, včetně převzatých ilustrací. Práce je přehledně členěna a obsahuje veškeré nutné části.

### **Hodnocení částí předkládaného spisu**

#### **Literární přehled**

Literární přehled shrnuje základní informace o možnostech regenerace vícebuněčných živočichů, se zaměřením na regeneraci ocasu u pulců žab. Bohužel musím vytknout, že literární přehled je dosti stručný a zejména v oblasti, která má být klíčová pro experimentální část práce by mohly být informace více detailní a více čerpat z recentních publikací zaměřených na regeneraci u obojživelníků, zejména na modelu axolotla. Více detailní by mohl být literární přehled molekulárních drah zapojených do regeneračních procesů. Z výčtu pouze klíčových drah zapojených do regeneračních procesů nezíská čtenář přehled o komplexitě a funkci jednotlivých kaskád a jejich úlohy při regeneračních procesech. Jinými slovy, téměř každý vývojový proces je závislý na Tgf-beta, Fgf, Wnt, BMP, Shh nebo PCP dráze, ale unikátnost ční v tom jak jsou jednotlivé dráhy využívány a jak vytvářejí komplexní regulační síť a toto bohužel v úvodu bylo jen velmi stručně zmíněno.

K literárnímu přehledu bych měl několik otázek:

- 1) Proč je problém imunogenita iPSC pro případnou léčbu pacientů?
- 2) Je analogie regenerace ocasu pulce s regenerací kosterního svalu skutečná? Může amputovaný sval celý dorůst?
- 3) Jako markery Sertoliho buněk zmiňujete vimentin, cytokeratin a beta-catenin, napadají vás jiné buněčné typy, které tyto geny exprimují?
- 4) Zmiňujete signální dráhy, které se účastní regeneračního procesu, jak si vysvětlujete, že přesto, že se jedná silně konzervované dráhy, tak podobná regenerace u savců není možná?

### **Cíle práce:**

Cíle práce jsou velmi dobře definovány, jsou srozumitelné a logicky navazující.

### **Metody:**

Metodika použitá v práci je impozantní a pokrývá portfolio práce s žabím modelem. Vyzvihl bych i zapojení pokročilých zobrazovacích metod jako light sheet mikroskopii.

### **Výsledky a diskuze:**

Výsledky práce logicky následují stanovené cíle a výsledkem je velmi dobrý základ na několik vědeckých publikací.

V rámci výzkumu refrakterní fáze během regenerace ocasu pŕlců *X. tropicalis*, studentka objevila, že druh *X. tropicalis* nemá refrakterní fázi a tím je ještě vhodnějším modelem pro studium regenerace než *X. laevis*. Dále se podařilo prokázat, že alogenní transplantace XtiSC do pulce je viabilní a není organismem odvrhnuta. Zajímavým výsledkem je také pozitivní migrace XtiSC do místa amputace. Jako zajímavý mechanismus regulace XtiSC a poškození tkáně je pomocí NO signalizace. Dalším zajímavým výsledkem je korelace mezi transplantací XtiSC a počtu Pax7+ satelitních buněk, což může mít velice zajímavý translační potenciál.

K výsledkům bych měl několik otázek:

- 1) Zkoušeli jste co se stane s transplantovanými buňkami po metamorfóze?
- 2) Při studiu migrace XtiSC do místa amputace, byl pozorován rozdíl v efektivitě regenerace u pŕlců, kde došlo k výrazné migraci XtiSC v porovnání s jedinci, kde migrace byla minimální či žádná?
- 3) Jaký vliv na regeneraci ocasu má obecně inhibice eNOS a nNOS?
- 4) Jak si vysvětlujete, že XtiSC nebyly schopné NO produkce in- vitro, ale po transplantaci do pulce byla schopnost produkce NO detekována?
- 5) Autorka předpokládá, že NO signalizace stojí za aktivací dalších signálních drah během regeneračního procesu. Existuje nějaké propojení mezi NO a například Wnt nebo Fgf dráhou?

- 6) Kolokalizační signál Pax7 a XtiSC je poměrně slabý v ohledu na množství buněk, myslíte že má nález nějakou biologickou relevanci?

Dále mám ke kapitole výsledky několik konstruktivních připomínek.

- 1) Obrázky a obrázkové panely nemají sjednocený formát a působí to značně rušivě. Je třeba si zvolit jeden formát presentování výsledků a toho se držet v celé práci. Jedná se zejména o fonty, barvy a umístění popisů obrázků, rámování a mezery mezi jednotlivými obrázky v panelu nebo orientace v řádcích či sloupcích. Samozřejmě na kvalitu výsledků to vliv nemá, ale je to důležitý předpoklad pro publikování. Zejména obrázky 29, 30 a 32 jsou nepřehledné a design není úplně vhodný.
- 2) Diskuse není úplně vhodně členěna zejména obsahuje značné množství informací z úvodní části. Získané výsledky nejsou diskutovány se současným stavem poznání, ale spíše paralelně zmíněny. Nicméně od stránky 57 nabírá diskuse správnou formu a je patrné, že v dané tématice molekulární regulace regenerační procesů je již autorka na pevné půdě.

**Závěrem bych chtěl jako oponent diplomovou práci doporučit k obhájení navrhuji 1-, přes veskrze drobné nedostatky se jedná o velice zdařilou práci, kterou doufám uvidím v blízké době jako publikaci v odborném časopise. Aneta Wróblková prokázala schopnost řešit vědecký projekt a osvojit si metodiku k získání kvalitních dat, data uspořádat a interpretovat.**

**Ve Vestci 24.8. 2020**

**Jan Prochazka PhD**