

## **Oponentský posudek magisterské práce**

### **Tomáš Suchánek: Migrace a skeletogeneze trupové neurální lišty bazálních ryb**

#### **Hodnocení výsledků z hlediska tvůrčího přínosu**

Autor se zaměřil na popis vzniku a migrace buněk neurální lišty v trupové části zárodku u tří druhů bazálních paprskoploutvých ryb, bichira, jesetera a kostlína. Autor se domnívá, že trupové buňky neurální lišty by se mohly podílet na formování ganoidních šupin u bichira senegalského, které tvoří část jeho exoskeletu. Téma je vysoce zajímavé a dotýká se základních poznatků evoluce neurální lišty.

#### **Formální kvalita a jazyk**

Kvalita textu a jazykové vyjádření jsou na vynikající úrovni. Autor srozumitelně a logicky popisuje účel použitých experimentů. Výsledky jsou jasně prezentovány pomocí fluorescenční imunohistochemie a in situ RNA hybridizace. Kvalita obrázků fluorescenčního barvení je spíše průměrná, jistě by pomohla konfokální mikroskopie či optimalizace blokace pozadí při protilátkovém značení.

#### **Hodnocení jednotlivých částí práce**

##### **Literární přehled a cíle práce**

Teoretický úvod je sice popsán jen na 7 stranách, ale dostatečně poskytuje vhled do problematiky diferenciačního potenciálu buněk neurální lišty v trupové části těla, a to u více živočišných druhů. Bohužel chybí jasně formulované cíle práce, které by byly zmíněny v oddělené kapitole této diplomové práce.

##### **Materiál a metody**

Tato část dostatečně dokumentuje metodické přístupy experimentů a použité reagensie. Autor používá standardní postupy imunohistochemického barvení a in situ mRNA hybridizace. Je třeba zmínit, že nalezení vhodných protilátek pro neobvyklé experimentální modely bazálních ryb asi nebylo snadné. Jen připomínám, že chybí vysvětlení a zdroj reagensie JB-4, používané na zalití preparátů.

##### **Výsledky**

Výsledky jsou prezentovány jasně a přehledně. Autor zdokumentoval pozici buněk trupové neurální lišty zejména pomocí protilátkového značení markeru Sox9. Pozoroval označené buňky během vzniku neurální lišty, i během delaminace a migrace v základních migračních proudech ventro-mediálních a

dorzo-laterálních. Porovnal tyto výsledky ve všech třech druzích studovaných bazálních ryb, bichirovi, jeseterovi a kostlínovi. V trupové části buňky neurální lišty začínají migrovat po zformování nervové trubice, tj. po uzavření neurálních valů (bichir, jeseter) nebo po kavitaci neurálního klínu (kostlín). Dále autor použil značení studovaných buněk pomocí mikroinjikace fluoroforu CM-Dil do nervové trubice. Tato experimentální část je dle mého názoru nejméně průkazná a vede k ukvapeným závěrům.

### **Diskuse a Souhrn**

V diskusi jsou srovnány osudy buněk trupové neurální lišty u studovaných ryb a i u dalších druhů (myš, kuře, axolotl) a autor konstatuje, že delaminace a migrace buněk NL je srovnatelná s dalšími obratlovci. K diskusi nemám připomínek.

**Závěrem konstatuji, že předložená práce dosahuje velmi dobré úrovně a doporučuji ji k přijetí.**

### **Připomínky**

1. Název diplomové práce zmiňuje termín skeletogeneze. Je sice pravda, že v teoretickém úvodu se autor zabývá rolí buněk neurální lišty při formování exoskeletu během evoluce, ale žádný z experimentů skeletogenezi neanalyzuje. Proto je tento termín v názvu diplomové práce zavádějící.
2. Experimentální označení migrujících buněk pomocí CM-Dil je standardní zavedená metoda. V tabulích 13 a 14 jsou shrnuty výsledky. Přestože se odlupující buňky NL vyskytují pouze v dorzálním cípu nervové trubice, počáteční značení se nachází téměř uprostřed nervové trubice, kde neurální lišta není. Během následných dní autor pozoruje rozšíření signálu Dil do okolí, což může znamenat pouhou difuzi a ne migraci označených buněk. Schází tedy protilátkové značení Dil pozitivních oblastí, aby autor mohl mluvit o jednotlivých buněčných derivátech hlavně v diskuzi a v závěru.

### **Otázky k diskuzi**

1. Jak byste uchopil téma skeletogeneze a účast buněk trupové neurální lišty v studovaných rybích druzích, když už máte toto téma přímo v názvu vaší práce a plánujete se mu nadále věnovat?