

Oponentský posudek na dizertační práci: Denisa Kirdajová (2022)

NG2-glia proliferation and differentiation following CNS

NG2-glia proliferace a diferenciaci po poškození CNS

Dizertační práce Denisy Kirdajové je zaměřena na popis a transkriptomickou charakteristiku NG2 gliových buněk za různých patologických stavů poškozujících centrální nervovou soustavu (CNS). Práce má jasně stanovené hypotézy, obsahuje ucelená kvalitní data, vhodné a zajímavé metodické přístupy. Práce je součástí širší výzkumné aktivity týmu Ing. Miroslavy Anděrové Csc. a přináší nové a velmi cenné poznatky pro porozumnění role gliových buněk při poškození mozku. Studentka během svého studia publikovala úctyhodných 12 publikací, včetně prvoautorského článku. Již toto je velice jasným průkazem kvality předkládaných dat.

Formální stránka dizertační práce

Dizertační práce je psána v anglickém jazyce. Psaný text obsahuje pouze vzácně komplikované a gramaticky nevhodné větné konstrukce, které nepovažuji za významné, ale je dobré se jim přistě vyvarovat, protože mohou zkreslit interpretaci z textu. Literární zdroje jsou citovány správně, včetně převzatých ilustrací. Práce je přehledně členěna a obsahuje veškeré nutné části.

Hodnocení částí předkládaného spisu

Úvod

Úvod velmi přehledně shrnuje základní informace o biologii NG2 gliových buněk a jejich vztah k poškození mozku. Popis jednotlivých experimentálních modelů je velice přínosný pro další části dizertační práce. Jako neodborník na gliové buňky oceňuji, že z textu je možné získat velice dobrou orientaci v problematice. Pokud bych měl něco vytknout, tak jen absenci uceleného schématu gliových buněk, se zvýrazněním pozice NG2 a jejich odvozených populací.

K úvodu bych měl několik otázek:

- 1) Přítomnost kanálů v gliových buňkách způsobuje různé změny proudů během poškození mozku, ale je známo co tyto proudy mají za funkci během fyziologické homeostáze?
- 2) Je složení/zastoupení gliových buněk stejné u myši (experimentální model) a u člověka (cíl výzkumu). Pokud rozdíl existuje, může zkreslit přenos experimentálních dat do klinické praxe?
- 3) Je možné studovat NG2 in-vitro? Případně jaký experimentální systém byste navrhla.

Cíle práce:

Cíl práce je velmi dobře definovaný a je atraktivní v širším biologickém i medicínském kontextu. Práce se opírá o tři stanovené hypotézy, kterou jsou dobře postulované, jen možná hůře srozumitelné.

Metody:

Metodika použitá v práci je impozantní a pokrývá portfolio práce s transgenními modely a jejich využití pro state of the art transkriptomickou analýzu. Vyzdvihl bych presentaci transkriptomových dat a velice zdařilé grafy, které umožňují přehlednou vizualizaci větších a velkých dat.

Výsledky a diskuze:

Výsledky práce logicky následují stanovený cíl a řeší navržené hypotézy v logickém celku. Výsledky byly publikovány ve dvanácti recenzovaných prestižních vědeckých publikacích. Je tedy nepatřičné hodnotit kvalitu experimentů a dat. Popis heterogenity NG2 buněk a jejich následné diferenační programy během poškození mozku je velice cenný pro další rozvoj oboru. Jako určité doporučení či zamyšlení bych otevřel otázku jaké jsou funkce jednotlivých genů, které se během diferenciace NG2 buněk mění, či jsou specifické pro jednotlivé typy gliových buněk. Takové propojení mi v práci trochu chybělo, ale z vlastních zkušeností vím, že cesta od analýzy transkriptomu po pochopení funkce je velice dlouhá a ne vždy snadná.

K výsledkům bych měl několik otázek:

- 1) Co myslíte označením BAC inducible mouse? Co znamená BAC?
- 2) Znáte genetický systém brainbow či inducibilní Confetti? Bylo by možné tento systém ve vašem výzkumu použít?
- 3) Jak vypadá CSPG4 pozitivní populace hned po TAM po indukci? Je CSPG4 cre driver aktivní i jinde v těle než v mozku?
- 4) Existuje v rámci NG2 bonafide populace, část buněk která je vysoce dormantní a zahajuje proliferační expanzi jen v případě specifických stimulů? Existuje analogie k Bmi1+ buňkám ve střevní kryptě?
- 5) Může za nějakých okolností dojít k diferenciaci na samotné neurony?
- 6) Pokud používáte LRP6 jako transkripční marker, jak je to vypovídající stran funkce ve Wnt signalizaci? Neměl by být hodnocen i fosforylační stav proteinu?
- 7) Jak si vysvětlujete, že pericyty mohou nabýt charakteru astrocytů v závislosti na prostředí? Mohla byste navrhnout funkční experiment, který by vaši hypotézu otestoval?
- 8) Jak by mohlo být využito znalostí s nárůstem proinflamatorní signalizace u stárnoucí mozkové tkáně? Mohli by eventuelně antiinflamatorní cytokiny zlepšit následky poškození mozku po mrtvici?

Závěrem bych chtěl jako oponent dizertační práci doporučit k obhájení. Denisa Kirdajová objektivně prokázala schopnost řešit vědecký projekt a osvojit si metodiku k získání kvalitních dat, data uspořádat a interpretovat.

Ve Vestci 13.6. 2022

Jan Prochazka PhD