



Posudek oponenta diplomové práce

Diplomová práce:

Název: Role of Noncanonical Wnt Pathway in Craniofacial Development

Autor: Bc. Andrea Burianová

Slovní komentář k práci:

Předložená práce si klade za cíl analyzovat roli nekanonické Wnt signální dráhy ve vývoji obličejové oblasti myši s využitím kondicionální mutagenese, při které je vymutován gen *Wnt5a* specificky v buňkách neurální lišty.

Práce je psaná výbornou angličtinou, je čtivá jako pohádka na dobrou noc: tím myslím, že ji čtenář přečte na první dobrou a ihned ví, o čem je řeč a co jsou hlavní teze dané práce. Úvod je členěn logicky od obecného ke konkrétnímu a vkusně uvede čtenáře do dané problematiky. Datová část je členěna přehledně opět od obecného ke specifickému. Obrázky jsou přesně tak, jak mají být. Čtenář nemusí nikde nic dohledávat, nikam se v textu vracet, nic řešit, vše je přehledné, na svém místě, vše je jasné. Abstrakt je strukturován přesně tak, jak je to vyžadováno. Už dlouho jsem nečetl tak dobře napsanou práci.

Gratuluji!

Analýza fenotypu *Wnt1-Cre2; Wnt5a^{fl/fl}* mutantů je logicky členěná. Analýza exprese možných downstream faktorů je představena na obrázcích řezů celou hlavou embrya. Zde bych si dovedl představit, že budou detailněji vyfoceny oblasti zájmu (FNP a PA1) tak, jak je tomu na obrázku 5.8A-B', aby bylo možné případné rozdíly lépe podchytit (hádám, že v případné publikaci bude toto vyžadováno). Chválím použití HCR v3.0.

Se způsobem, jakým byla analyzována apoptóza v diplomové práci, jsem se ještě nesetkal. Je tento způsob publikován v nějaké publikaci? Nešlo by měřit míru apoptózy například celkovým počtem Cas3⁺ pixelů nebo poměrem Cas3⁺/DAPI⁺ pixelů v kontrole vs. cKO. Předpokládám, že takovýmto způsobem by se mohl obejít možný problém s chybou způsobenou manuálním označením apoptotické oblasti a rozdíl v kontrole vs. cKO by se nakonec přeci jen třeba i projevil.

Velmi se mi líbí obě analýzy, které studují polaritu buněk neurální lišty. Okometricky obě analýzy naznačují, že existují rozdíly v kontrole vs. cKO. K úplné dokonalosti by ale asi chtělo mít tato data podpořena statistickým zpracováním. Předpokládám, že složitější bude asi vysvětlit, proč se dělicí vřetenka u FNP a PA1 cKO orientují v +45° a -45° vzhledem k PD ose a stejně tak úhly, které svírají báze primární cílie k centru buňky u kontroly i cKO (+45°, -45°, +135°, -135°) opět vzhledem k PD ose.



Tyto mé poznámky však nijak nesnižují kvalitu prezentovaných dat ani jejich interpretaci a z hlediska datového jsem nadměru spokojen.

Otázky:

Která část *Wnt5a* lokusu byla u *Wnt1-Cre2; Wnt5a^{fl/fl}* kondicionálních mutantů vydeletovaná?

Wnt1-Cre2; Wnt5a^{fl/fl} mutanti představují hezký nástroj, jak studovat roli nekanonické Wnt signální dráhy v kraniofaciálním vývoji. Chtěl jsem se zeptat, proč byl analyzován fenotyp pouze při vývoji frontonazálního výběžku a dolní čelisti, a ne například během palatogeneze (u které je role nekanonické Wnt signální dráhy předpokládána a navíc cKO mutanti mají na obr. 5.2 rozštěp patra) nebo vývoje druhého faryngeálního oblouku (který dává vznik části jazyčky). Technicky by se nejednalo o nijak složitou analýzu a dosažené výsledky by mohly přinést mnohem kompletnější vhled do role této dráhy v kraniofaciálním vývoji.

Převážná část analýzy cKO myši byla prováděna na histologických řezech vedených mediálními liniemi. Byla prováděna také analýza exprese na whole mount embryích? Nestálo by za to provést také SEM analýzu vyvíjejícího se obličejce, kde by bylo možné zhodnotit velikost/rozsah jednotlivých struktur vznikajících z NC (lateral nasal, medial nasal, maxillary, ...) u kontrol vs. cKO?

Líbí se mi analýza míry proliferace a apoptózy ve FNP u kontrol vs. cKO. Proč ale nebyly provedeny obdobné analýzy také v PA1?

Není ve vývoji FNP a PA1 důležitý convergent extension proces?

Celkové hodnocení:

Práce splnila nároky kladené na diplomový projekt a samozřejmě ji doporučuji k obhajobě. Práci hodnotím stupněm výborně.

V Praze dne 30.5.2024

Mgr. Vladimír Soukup, Ph.D.