

Petr Svoboda, Ph.D.
Institute of Molecular Genetics
Videnska 1083
14220 Praha 4
Czech Republic

phone: +420 241063147
mobile: +420 774798122
fax: +420 224310955
e-mail: svobodap@img.cas.cz
www: <http://www.img.cas.cz>

V Praze, 7.4. 2008

**Oponentský posudek disertační práce Radka Šindelky:
Gene expression in early development of *Xenopus laevis***

Ke svému hodnocení disertační práce Radka Šindelky bych chtěl předem podotknout, že i když toto je moje první oponentura kandidátské disertační práce v České republice, myslím, že jsem kvalifikován takový posudek poskytnout. Oponenturu jsem vypracoval mj. na základě zkušeností z University of Pennsylvania (UPENN, Philadelphia, USA) a Friedrich Miescher Institute (FMI, Basel, Švýcarsko). Na UPENN jsem vypracoval svoji vlastní disertační práci a četl jsem několik prací svých kolegů. Zároveň jsem byl dva roky zástupcem PhD studentů v tzv. Advising Committee, která na Department of Biology dohlíží na vývoj PhD studia v prvních několika letech PhD programu. V FMI jsem jako postdoc v laboratoři Witolda Filipowicze měl na starosti několik PhD studentů a četl jsem všechny disertace, které během mého pobytu byly sepsány. Navíc příležitostně píši oponentské posudky pro Nucleic Acid Research a Biology of Reproduction.

Disertační práce je strukturována modernější formou, kdy po krátkém literárním úvodu následují odborné publikace související s tématem disertace. Tato forma dělá disertaci méně objemnou a poskytuje dobrý přehled o vědecké kvalitě a produktivitě kandidáta. Úskalí tohoto přístupu spočívá v nutnosti připravit úvodní text v rozsahu dostatečně pokrývajícím publikované články a v jazykově srovnatelné kvalitě.

Disertační práce se skládá z dvaceti stránek textu a referencí, za kterými následuje šest článků, na kterých se kandidát autorsky podílel, z toho dvakrát jako první autor na experimentálních pracích publikovaných ve skutečně solidních peer-reviewed zahraničních časopisech. V jedné experimentální práci je uveden jako druhý autor a zbývající tři práce jsou přehledné články (reviews), kde je jedním ze spoluautorů. Další dvě experimentální práce, na kterých se před obhajobou autorsky podílel, nejsou součástí disertaci neboť do tématů disertace nezapadají.

Celkové hodnocení: **předloženou disertační práci doporučuji k přijetí.**

Po faktické stránce práci hodnotím jako výbornou a drobné formální nedostatky tuto kvalitu dramaticky nesnižují. I když je práce formulována jako analýza genové exprese v časném vývoji *X. laevis*, její hlavní těžiště bezesporu leží ve vývoji technologie kvantitativní analýzy genové exprese pomocí kvantitativní real-time RT-PCR (qPCR). Samotné bezpečné zvládnutí této technologie představuje úctyhodný a ne vždy doceněný výkon. Proto se domnívám, že i když biologickou náplň práce lze do značné míry ohodnotit jako popisnou, není toto překážka pro kladné hodnocení a přijetí této práce. Hlavní přínos disertační práce pak představuje řešení problému normalizace genové exprese a vývoj qPCR tomografie pro analýzu subcelulární lokalizace mRNA.

Připomínky:

Jak jsem již zmínil dříve, tento řešení disertace jako kombinace úvodu a souboru článků s sebou nese problém v nutnosti poskytnout úvodní text v rozsahu dostatečně pokrývajícím publikované články a v textově srovnatelné kvalitě. Tohoto není v případě disertace Radka Šindelky úplně dosaženo a úvodní text po jazykové a obsahové stránce znatelně pokulhává za tím, co vyšlo tiskem. Úvodnímu textu by velmi prospěla pečlivá korektura, která by zvýšila kvalitu disertace i po formální stránce. Nejde jen o drobné gramatické chyby, chyby v užití angličtiny, ale jde i o lepší celkovou strukturu textu a obsah některých vět a pečlivější výběr citací. Pro lepší představu uvedu konkrétní příklad, který dobře ilustruje tyto problémy:

The functions of many developmental genes and their expression patterns in various tissues and developmental stages have been described. Typically, genes are part of signaling pathways with up and downstream regulations. Changes in the expression of one gene affect expression of many other genes, some of which may be members of other signaling pathways. Therefore, to understand the complex process of development it is essential to first determine the expression profiles and functional characteristics of key genes in different developmental stages (Koide et al. 2005; Heasman 2006). Most of our information about gene function and expression is based on experiments where expression was measured in a mixture of cells. Such data reflect properties of an average (and artificial) cell, and not the situation/potential/commitment of true cells. The expression among cells may vary greatly even within a cell population (Levsky et al. 2003).

Významový obsah vět a pečlivost při jejich formulování:

Červená věta není významově jasná, neboť geny jsou fragmenty DNA a jako takové mohou být regulovány v rámci signálních drah, nebo produkty těchto genů mohou být součástí signálních drah, které mj. regulují transkripci. Navíc se domnívám, že modrá věta se významově překrývá s červenou a odstranění červené věty by na text nemělo žádný efekt. Při pečlivém čtení lze nalézt stále dost vět, jejichž odstranění by se textu nijak nedotklo (a často ho i více zpřehlednilo). Například vypuštění banální věty Results are further analyzed and conclusions are derived. na straně osm nezmění prakticky vůbec nic.

Co se týče pečlivosti, příkladem pečlivé stavby textu by bylo třeba nahrazení /potential/commitment of true cells výrazem in individual cells, protože *individual cell* je použit v protikladu k *mixture of cells* v předchozí větě a je tedy lepší výraz než *true cell*. Zelená věta je obsahově matoucí a sama osobě významově prázdná, pokud není zpřesněna, například: The expression among cells may vary greatly even within a population of otherwise phenotypically identical cells (Levsky et al. 2003). Možná to zní jako přílišné rýpání, ale vědecký text musí být založen na maximální přesnosti a co nejpečlivější formulaci.

Uvádění citací:

Důvod použití citací **Koide et al. 2005; Heasman 2006** ve výše uvedeném textu mi není úplně jasný – opravdu až v roce 2005 bylo v původní práci poprvé formulováno, že k pochopení vývoje je nutné určit expresní profily a funkční charakteristiky klíčových genů v jednotlivých vývojových stádiích? Nebylo by vhodnější tyto citace uvést například (reviewed for example in ...). Tento problém s vhodným uvedením citací a uvedením vhodných citací se opakuje na několika místech, např. citace k maternálním mRNA na straně šest, formování šedého srpku na straně sedm, metodám studia exprese na straně osm. Autor by měl pečlivěji rozlišovat, která práce dostane kredit za skutečně původní informaci, kterou použije v textu, která práce je citována jako „ilustrační“ (a uvést ji například: e.g., for example ...) a která práce shrnuje poznatky, které jsou obecnějšího rázu a už se pro ně originální citace nepoužívají (reviewed in, for more details see ... atd.). Citace, případně copyright postrádám i u obrazového materiálu, kde by bylo vhodné zmínit jeho původ i v případě, že pocházejí přímo od autora disertace a nebyly dosud publikovány.

Můj celkový dojem z předložené disertace je, že po sepsání nedostala šanci na pečlivou finální formální a jazykovou revizi po nějakém delším časovém odstupu. Výše zmíněné nedostatky snižují kvalitu jinak výborných výsledků Radka Šindelky, nicméně nepředstavují zásadní překážku pro moje doporučení této práce k přijetí. Na rozdíl od USA, český systém neumožňuje do finální verze disertace zapracovat připomínky oponentů. Doufám tedy, že si Radek Šindelka z mého komentáře alespon vezme ponaučení do další kariéry.

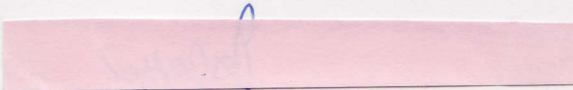
Otázky pro obhajobu:

Které jiné modelové systémy jsou vhodné pro použití PCR tomografie?

Je možné k normalizaci exprese ve vývoji *X. laevis* použít 18S rRNA místo celkové RNA?

Mění se celková RNA během vývoje *X. laevis*?

Doporučil byste normalizaci podle celkové RNA korigovat podle rozdílu obsahu celkové RNA v jednotlivých vývojových stádiích?


Petr Svoboda