

## Oponentský posudek na magisterskou práci

Bc. Markéta Vegrichtová

Příprava transgenní kultury testikulárních kmenových buněk *Xenopus tropicalis*.

---

Magisterská práce Bc. Markéty Vegrichtové je zaměřena na podmínky kultivace testikulárních kmenových buněk izolovaných z *Xenopus tropicalis* a jejich charakterizaci. Dále se věnuje přípravě stabilní transgenní linie těchto buněk a jejímu testování.

### Hodnocení výsledků z hlediska tvůrčího přínosu

Autorce se přidavkem cytokinu LIF do kultivačního media podařilo zlepšit proliferační potenciál kultury testikulárních kmenových buněk a pre-Sertoliho buněk, které jsou v Laboratoři vývojové biologie PřF UK dlouhodobě kultivovány.

Charakterizace buněčné kultury spočívala v navržení a detekci sady genů, které jsou považovány za markery pluripotence, markery zárodečných buněk a Sertoliho buněk. Výsledky naznačily společný původ testikulárních kmenových buněk a pre-Sertoliho buněk v kultuře.

Hlavním přínosem je příprava stabilně transfekované kultury testikulárních kmenových buněk, jejímuž dosažení předcházelo testování řady metod, které však vedly pouze k transfekci dočasné. U buněk stabilně exprimujících červený fluorescenční protein testovala autorka diferenciaci *in vitro* a zahájila úspěšné pokusy s allogenní *in vivo* transplantací.

### Formální kvalita předložené práce

Formálně perfektní včetně předložených tabulek a obrázků.

### Jazyk

Bez formulačních problémů a prohřešků proti gramatice (s výjimkou pravidelně chybějící čárky před spojkou a použitou v jiném než slučovacím poměru).

### Hodnocení částí předkládané práce

#### Literární přehled

Zde je dostatečným způsobem pokryta problematika kmenových buněk obecně i jejich jednotlivých typů. Velký prostor je věnován kmenovým buňkám zárodečných linií. Autorka se též věnuje dalším buněčným typům přítomným ve varlatech, z nichž byla jí studovaná kultura izolována.

#### Materiály a metody

Práce je metodicky bohatá, metody jsou popsány podrobně avšak věcně.

## Výsledky

V této části autorka názorně prezentuje výsledky formou obrázků, které jsou vysoké kvality. Současně zde není žádný zbytečný obrázek, který by uměle natahoval rozsah práce. Prezentace dat je pečlivá, graficky dokonalá.

## Diskuze

V diskuzi autorka vyvozuje na základě získaných výsledků a literárních dat logické závěry o původu testikulárních kmenových buněk a stupni jejich diferenciací. Tato část obsahuje též úvahy o dalším směřování výzkumu, kterým stojí za to věnovat další pozornost.

**Dle názoru oponenta je práce vynikající vizitkou pro další působení autorky. Bc. Markéta Vegrichová prokázala, že je schopna získat data vynikající úrovně, že je schopna pracovat velmi usilovně, a také, že je schopna data kriticky hodnotit.**

## Dílicí připomínky k práci a otázky do diskuze

### Formulační připomínky

V českém jazyce se nepoužívá pro tvorbu přídavných jmen přípona –ální ale –ová. Proto je lépe používat výraz mezenchymové spíše než mezenchymální buňky a epitel-mezenchymová spíše než epitelialně-mezenchialní tranzice.

V češtině máme peletu (rodu ženského) nikoliv pelet.

Možná je trochu nešťastné předkládat termín „single-cell suspension“ jako „jednobuněčná suspenze“. Lepším překladem by byla spíše např. „suspenze jednotlivých buněk“.

### Otázky

Předpokládáte, že máte čistě homogenní kulturu nebo se může jednat o směs buněk, z nichž některé jsou pluri- nebo multipotentní zatímco ostatní tuto vlastnost nemají a jsou více diferencované? Neuvažovali jste o provedení klonální analýzy, kdy byste stanovili poměr buněk schopných diferenciací do různých buněčných typů?

V případě transplantací do pulců migrují všechny buňky v rámci jednoho pulce do jedné lokalizace nebo do několika různých lokalizací. Tento dotaz souvisí s předchozím – pakliže by buňky v rámci jednoho pulce migrovaly do různých lokalit, je možné, že se jedná o mix buněk s různými preferencemi nebo je to spíš náhodné?

---