

## **OPONENTSKÝ POSUDEK**

doktorské disertační práce

Mgr. Jan Mašek

### **The role of transcriptional factor Tcf711 and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway during differentiation of the head ectoderm.**

Školitel: Doc. RNDr. Zbyněk Kozmik Ph.D.

Spoluškolitel: Ondřej Machoň Ph.D.

Předmětem předkládané disertační práce je studium raného kraniofaciálního vývoje se zaměřením na molekulární regulaci časné diferenciaci anteriorního ektodermu hlavy a posteriorní populace buněk neurální lišty. Studium rané embryogeneze na savčím modelu je velmi důležitým oborem vývojové biologie pro porozumění jak molekulárních mechanismů evoluce tělní stavby obratlovců, tak i obecných principů mezibuněčné signalizace a buněčných procesů s tím spojených jako je například diferenciaci nebo migrace buněk. Je mi velkou ctí a mocí oponovat práci, která svým zaměřením, obsahem i provedením odpovídá špičkové úrovni v oboru. Dizertační práce byla vypracována v laboratoři Transkripční regulace na Ústavu molekulární genetiky AVČR v Praze pod vedením Zbyňka Kozmika Ph.D. a Ondřeje Machoně Ph.D., kteří jsou oba velmi zkušenými odborníky na poli vývojové biologie, což potvrzuje i kvalita disertačního projektu Mgr. Jana Maška.

Text je psaný v anglickém jazyce bez zjevných gramatických chyb či překlepů, obrazová dokumentace je velice kvalitní, i když v pár příkladech lehce nepřehledná (například obrázek 9 a 10, kde by značení panelu mělo jít zleva doprava anebo by panely měly být pro lepší orientaci při čtení textu přeuspořádané). Samotná práce je členěna na úvodní kapitulu shrnující současný stav znalostí v oblasti kanonické Wnt signalizace se zaměřením na její úlohu při embryonálním vývoji hlavy a neurální lišty; v závěrečné části úvodu se poté autor zaměřil na roli transkripčního faktoru Tcf711 během embryonálního vývoje u myši a dani. Bohužel úvodní část neobsahuje kapitoly představující další experimentální výsledky přiložené k práci jako velice pěkný manuskript „Meis2 is essential for cranial and cardiac neural crest development“, stejně tak jako neobsahuje úvodní kapitulu k vývoji oka a roli Wnt signalizace během diferenciaci očních tkání. Tímto vzniká dojem násilného připojení dvou kapitol výsledků bez zjevného úvodu. Toto bych označil jako největší nedostatek práce a jistě by lepší rozvržení úvodní části přispělo k větší homogenitě celé disertační práce.

Cíle jsou velmi dobře formulované, ale opět jen pro část experimentální práce, úplně chybí formulace cílů k experimentální práci na transkripčním faktoru Meis2.

Z prezentovaných výsledků je zřejmé, že si Jan Mašek osvojil excelentní metody vývojové biologie, včetně práce s transgenními modely jako jsou kondiciované alely, cre-drivery a reportery, BAT-Gal systém apod. Součástí práce velmi dobrá charakterizace mutantního fenotypu u Tcf711 cKO embryí včetně objasnění molekulárně buněčného mechanismu.

Pro obhajobu Mgr. Jana Maška bych rád položil několik doplňujících otázek:

- 1) Ve své práci předpokládáte, že Tcf711 je v rámci kanonické Wnt signalizace spíše supresivní a jeho kondiciované odstranění vede ke zvýšení Wnt aktivity a posteriorizaci hlavového ektodermu včetně zvýšení množství buněk neurální lišty včetně zvýšené migrace (obrázek 9B), avšak na obrázku 7E jsou patrné hypomorfní obličejové výběžky jejichž mesenchym je z většiny tvořen právě přimigrovanými buňkami neurální lišty. Jak by bylo možné tento rozpor vysvětlit?
- 2) V práci bylo dobře zdokumentováno, že odstranění Tcf711 vedlo ke zvýšení proliferace v primárních vláknech čočky (fiber cells), což je konzistentní s předpokladem, že Tcf711

funguje jako supresor Wnt signalizace. Jaká buněčná populace by v tomto modelu byla zdrojem Wnt ligandu a, pokud je tato známá, o jaký Wnt ligand se jedná?

Jan Mašek velmi dobře prokázal orientaci v současné literatuře, stejně tak i výborný přehled v aktuálních metodách a jejich praktické využití během experimentální práce. Hůře lze jen hodnotit rozvržení dizertační práce, zejména nezahrnutí literárního přehledu, který by se vztahoval k části výsledků (Tcf711 a vývoj oka, Meis2 transkripční faktor v embryonálním vývoji).

O kvalitě práce Jana Maška nejvíce svědčí fakt, že stěžejní část výsledků dizertační práce byla přijata do prestižního časopisu Development! I další příložený článek „Meis2 is essential for cranial and cardiacneural crest development“ je velice zajímavý a velmi kvalitní.

Závěrem lze shrnout, že až na drobné nedostatky je dizertační práce excelentní kvality, včetně prvoautorské publikace v top časopisu vývojové biologie. Doporučuji, aby po úspěšné obhajobě byl Janu Maškovi udělen akademický titul Ph.D.

Ve Vestci, 29.4.2016 Jan Procházka Ph.D.  
oponent