



UNIVERZITA KARLOVA
I. lékařská fakulta

Oponentský posudek disertační práce „Jaderná architektura a genová exprese u *Caenorhabditis elegans*“, kterou předkládá Mgr. Jitka Bolková v rámci Oborové rady Vývojová a buněčná biologie Doktorských studijních programů Univerzity Karlovy a Akademie věd České republiky.

Charakterizace předkládané práce

Předkládaná disertační práce má rozsah 131 číslovaných stran a zahrnuje více než 160 citací vědeckých prací. Práce je napsána v českém jazyce a má obvyklý formát zahrnující literární přehled, cíle práce, materiál a metody, výsledky, diskusi, shrnutí, seznam publikací vázících se k tématu a seznam literatury. Práce je doprovázena autoreferátem v rozsahu 22 stran formátu A4, který je rovněž psán v českém jazyce.

Práce je postavena na dvou publikacích, jichž je předkaldatelka práce první autorkou a na další připravované publikaci. Vědecké práce, na nichž je disertační práce postavena, si kladou tři cíle, jejichž společným znakem je snaha pochopení vztahů mezi probíhajícími biologickými procesy a jadernou strukturou. Práce je rozdělena do tří dílčích projektů: 1 – studia uspořádání rodičovských chromatinů v blastomerách časného embryonálního vývoje, 2 – analýzy genové exprese v časném embryonálním vývoji *C. elegans* pomocí RNA *in situ* hybridizace s citlivostí jediné fluorescenční molekuly a 3 – analýzy nukleo-cytoplazmatického poměru během časného embryonálního vývoje *C. elegans*.

Všechny hlavní části práce jsou psány jasně a srozumitelně a jsou dobře strukturovány. Úvod zahrnuje představení problému jaderné architektury a modelového organismu *C. elegans*. Metody jsou popsány jasně a detailně. Výsledková část je podána s vloženými hodnotícími či diskusními poznámkami, které by mohly být vynechány nebo přesunuty do části věnované diskusi, které však dělají text lehce srozumitelným.

Hlavními kladnými rysy předkládané práce je vysoká technická a odborná hodnota biologického poznání studované problematiky, která je bez nejmenších pochybností prioritní a vynikající ve světovém měřítku. Dalším rysem práce je zřetelná skromnost autorky, která vyzdvihuje přínos a význam spoluautorů. To se také odráží ve zřejmé snaze nepřestupovat interpretaci výsledků nad minimalistickou, avšak maximálně podloženou mez. To společně s velmi rozsáhlým experimentálním přístupem ukazuje na vysokou a příkladnou kvalitu odvedené experimentální práce.

První část uzavírá, že mateřský a otcovský chromatin setrvávají v odděleném stavu i po prvním dělení na buňky AB a P1, ale ve čtyř buněčném embryu (Aba, ABp, P2, EMS), kdy se obě buňky v čase postupně rozdělí, dojde k prvním známkám pozorovatelného prostorového promísení obou parentálních chromatinů.

Druhá část dokládá rotaci zygotického chromatinu o 180 stupňů v antero-posteriorní ose.

Třetí část velmi přesvědčivě mapuje transkripční aktivitu v jádrech pachytenní a diplotenní části gonády a dokládá, že transkripční aktivita má vrchol v pozdní pachytenní části a v diplotenní části gonády, kdy dochází k restrukturalizaci chromosomů a pak dramaticky klesá v diakinesi.

To dokládá nejen přítomností aktivované RNA Pol II ale také detekcí nově tvořených transkriptů metodou *in situ* hybridizace s jednomolekulární citlivostí.

Práce se uzavírá částí o prostorovém poměru jádra a cytoplasmy, který klesá během vývoje oocytů a naopak stoupá v průběhu embryogeneze. Práce v této oblasti přináší přesná data, která se pravděpodobně stanou součástí referenčních publikací. Spojujícím aspektem jednotlivých částí práce je strukturální analýza dynamických biologických procesů z hlediska propojení jaderných a cytoplasmatických dějů v ranných stádiích ontogeneze *C. elegans*.

Práce má vysokou odbornou kvalitu a velkou výpovědní hodnotu v získání nových biologických dat.

Zaznamenal také ojedinělé nedostatky, především formulační a jazykové a formální. Ocenil jsem vypracování téže v českém jazyce. Mnoho biologů se takovému řešení vyhýbá z důvodů nutnosti používat velké množství odborných údajů v jejich anglické formě a z toho vyplývajících jazykových obtíží. Uvědomil jsem si však, že současné trendy vývoje jazyka a udržování kvality a vývoje jazyka upadá a za některé jazykové a formální prohřešky autorka není jednoznačně vinna sama. Myslím, že je nutné mít na zřeteli, že současný trend předkládání disertačních prací v anglickém jazyce má podobné problémy, kterých si jen čtenáři s jiným než anglickým primárním jazykovým původem nejsou vědomi. Jednotlivé chyby neuvádím, zahrnují však občasné chybné psaní velkých a malých písmen v označení živočišných druhů v češtině a jejich počestlé formě. Občas jsem zaznamenal podle mne nevhodné použití neformálních slov a další jazykové chyby. Tyto chyby však v žádném případě nesnižují význam a kvalitu práce.

Doplňující otázky posuzovatele práce

Zajímá mne názor autorky na otázku nukleo-cytoplasmatického poměru ve vztahu k velikosti genomu u druhů tetraploidních (*Xenopus laevis*) v porovnání s diploidními druhy (*X. tropicalis*), dále v haploidních a diploidních formách kvasinek *Saccharomyces cerevisiae*, nebo ve velmi heterogenních populacích HeLa buněk v tkáňové kultuře.

Rád bych se také zeptal, jestli jsou změny v nukleo-cytoplasmatickém poměru doprovázeny změnami koncentrace transportních proteinů určujících velikost jader, jako je tomu u *X. laevis* a *X. tropicalis* (Importin a Ntf2).

V obecné rovině, by mne zajímá názor autorky na fyzikální, biochemické a biologické selekční tlaky, které pravděpodobně určují evolučně ustanovený rozsah velikosti buněk jednobuněčných i mnohobuněčných organismů. Jaké jsou největší známé "jednobuněčné" organizmy a jaký je v nich nukleo-cytoplasmatický poměr.

Jaký je vztah nukleo-cytoplasmatického poměru k transkripční aktivitě buněk, například v buňkách terminálně diferencovaných a velice specializovaných (jako jsou plasmatické buňky), v buňkách kmenového charakteru, v gametách a ve sporách?

Závěr

Mohu konstatovat, že autorka v rámci předkládané práce a publikací, které jsou jejím podkladem, řešila velmi aktuální a z obecně biologického hlediska důležité téma. Autorka použila moderní metody molekulární vývojové a evoluční biologie a získala obecně důležité vědecké poznatky.

Předkládaná práce má vynikající úroveň a dokládá také vynikající úroveň pracoviště.

Práce splňuje požadavky v daném oboru podle § 47 Zákona o vysokých školách 111/1998 Sb. a jeho znění k 1. 9. 2016. Doporučuji proto Oborové radě tuto práci jako podklad k udělení titulu PhD.

V Praze 1. 5. 2017

MUDr. Zdeněk Kostrouch