Jan Prochazka, PhD
Institute of Molecular Genetics of the ASCR,
Prumyslova 595, 252 42 Vestec
E-mail: jan.prochazka@img.cas.cz |
Phone: +420 325 873 259 | +420 773 760 794

Oponentský posudek na magisterskou práci: Jakub Onhajzer (2020)

Regenerační potenciál progenitorů Sertoliho buněk v rámci poškození srdce u *Xenopus tropicalis*

Regenerative potential of Sertoli cell progenitors regarding heart injury in *Xenopus tropicalis*

Magisterská práce Jakuba Onhajzera se zabývá problematikou přípravy modelu srdečního selhání u Xenopus tropicalis, metodologické zpracování a hlavně funkční analýzou buněk odvozených z progenitorů Sertoliho buněk (XtiSC) při možné regeneraci srdce. Z práce je evidentní zapojení studenta do chodu laboratoře a intezivní metodologická práce na optimalizaci přístupů studia regeneračního potenciálu XtiSC, stejně jako dobrá orientace ve studované problematice. Z diplomové práce je také cítit, že se jednalo o náročný projekt, kdy student musel řešit nejednu technickou překážku. Zde bych vyzdvihl, že právě schopnost řešit nastalé problémy je klíčovou predispozicí k další akademické kariéře. Podle diplomové práce mohu říci, že Jakub Onhajzer se problémů zhostil se ctí a jako výsledek je velice kvalitní diplomová práce.

Formální stránka diplomové práce

Diplomová práce je psána v anglickém jazyce. Použitý jazyk není bezchybný, v textu se s jasným gradientem ke konci více a více vyskytují gramaticky nevhodné větné konstrukce jako například: „Due to, these data, Sertoli cell immature phenotype and immunomodulatory capacity of these cells we retreated from CHIR99021 treatment, which transforms cells into MSC-like phenotype, which was mainly focused to direct differentiation to cardiomyocytes.“ Jedním z nešvarů je také četnost použití sousloví „On the other hand“. Přesto bych chtěl vyzdvihnout snahu o napsání diplomové práce v anglickém jazyce a gramatické a stylistické přešlapy nepovažuji za významné. Na stránkách 11, 17 a 39 jsem narazil na drobné překlepy. Literární zdroje jsou citovány správně, včetně převzatých ilustrací.

Hodnocení částí předkládaného spisu

Literární přehled

Literární přehled shrnuje základní informace o možnostech regenerace vícebuněčných živočichů. Přehledný, čtivý, ale místy až příliš stručný a citující převažně „review“ a možná klíčové byť historické zdroje, mohli být citovány. Přeci jen je v této tématice několik zásadních prací, které vedly k udělení Nobelovy ceny. Následující části jsou již více zaměřené na studovanou problematiku a citace jednotlivých prací jsou relevantní k obsahu. K literárnímu přehledu bych měl specifickou otázku k uváděnému poznatku: „After metamorphosis all anurans lose regenerative

capacity, due to immune system maturation and cellular differentiation. – v textu není citace, jedná se o obecnou znalost a vysvětlení rozdílu mezi žábami a ocasatými obojživelníky?
Dále: „fibronectin genes *col1a1"* col1a1 zcela jistě není fibronectin, není myšleno „fibrosis"?
Dále: „However, in neonatal mouse, main source of newly formed cardiomyocytes are stem cells (Li *et al.*, 2018), and within 7 days after birth can fully regenerate its lost cardiac tissue (Porrello *et al.*, 2011)." o jaké kmenové buňky se jedná? Je důležité kmenové buňky správně definovat.

Cíle práce:
Cíle práce jsou definovány převážně technicky, to vnímám jako drobný nedostatek. Práce by si zasloužila lépe definovaný vědecký cíl, jehož další části mohou být metodologické aspekty přípravy modelu.

Metody:
Metody jsou přehledem veliké píle a nasazení studenta v projektu. Soupis metod a kvalita zpracování je impozantní a skutečně potvrzuje pevné zapojení studenta do výzkumného projektu

Opravdu se používá slovní spojení „killing solution"?

Výsledky:
Výsledky práce je možné rozdělit do dvou skupin: první metodické řešení a optimalizace přístupů a druhé, kde jsou vlastní výzkumné výsledky.

K metodologické části bych měl výhradu zejména v chybějící kvantifikaci u optimalizace barvení, ale jinak se jedná o velice kvalitně zpracovanou optimalizaci protokolů pro navazující výzkumnou práci.

Měl bych jen drobné připomínky k popisku obrázků s fluorescenčními daty, kdy se DAPI ani RFP signál neoznačuje jako imunofluorescence a není ani třeba zdůrazňovat že signál je pozitivní. Jako drobnost spíše pro budoucí psaní publikace: pod grafy není nutné psát v jakém programu byly vytvořeny, toto patří do kapitoly Methods.

Navazující výsledky jsou skutečně velice zajímavé a osobně věřím, že mohou přinést revoluční pohled na problematiku regenerace terminálně diferencovaných tkání.

Pro presentované výsledky bych měl pár doporučení do budoucna"
Figure 12: velice tu chybí kvantifikace
Figure 14: vyvážení bílé
Figure 15: vyvážení bílé – není vůbec patrné, že trichrom je modrý
Figure 17: fluorescenční signál je velice slabý a nečitelný
Figure 19: kvantifikace fibrotické tkáně, například právě pomocí zmiňovaného ImageJ softwaru

Uvedené výsledky jsou velice zajímavé a velmi originální, měl bych několik navazujících otázek, ale musím zmínit, že otázky jsou myšleny k vědecké debatě a vžádném případě nesnižují kvalitu práce.

1) Kolonizace buněk po intracardiální injekci byla u pulců pozorována téměř výhradně v srdci, máte nějaké vysvětlení, proč buňky třeba nekolonizovaly, játra, žábry či jiné velmi vaskularizované orgány?
2) Při transplantaci XtiSC do kosterní svaloviny – byla provedena detailní histologická analýza, jak vypadá umístění buněk v rámci svalové tkáně? Je patrná nějaká diferenciace, je populace buněk ohraničena?
3) Opakovaně je v práci zmiňován unikátní imunomodulační sekretom jak MSCs tak analogicky u XtiSC, provedli jste nebo máte v plánu tento sekretomový fenomén zkoumat?
4) Bylo by na žabím modelu možné použít rekombinantní proteiny k testování kardioprotektivních účinků?
5) V diskusi se poměrně rozsáhle věnujete problematice plicní fibrosy při onemocnění Covid-19, myslíte je možné využít XtiSC k potlačení cytokinové bouře a imunitní destrukce plic?
6) Je teoreticky možné transplantovat XtiSC do myšího modelu, nebo je tělesná teplota problém?
7) Mohou mít savčí progenitory Sertoliho buněk podobné účinky? Existuje ustanovená linie?
8) Jak si předtavujete obecně aplikační potenciál regeneračního potenciálu XtiSC?

Závěrem bych chtěl jako oponent diplomovou práci doporučit k obhájení, přes veskrze drobné nedostatky se jedná o vynikající práci. Jakub Onhajzer prokázal schopnost řešit dílčí problémy a vypracovat metodiku k získání kvalitních dat, data uspořádat a interpretovat.

Ve Vestci 7.7. 2020

Jan Prochazka PhD