



ROBERT ČERNÝ, PH.D.  
robert.cerny@natur.cuni.cz

Phone: 00420 22 195 1850  
Fax: 00420 22 195 1841

S Honzou mám tu čest spolupracovat již delší dobu – po úspěšném obhájení jeho BP na téma „Biologie buněk neurální lišty ve vztahu ke kraniofaciální diverzitě obratlovců“ jsme se dohodli na tématu rozklíčování *patrností (pattern)* migrace a morfogeneze buněk neurální lišty (NL) u bichira, v kontextu unikátní a málo prozkoumané embryogeneze těchto basálních paprskoploutvých ryb, které naštěstí již několik sezón s různým štěstím a úspěchem množíme na našem mateřském pracovišti. Když jsme pak díky spolupráci s Ing. Gelou z JČU získali přístup k téměř neomezenému množství embryonálního materiálu jeseterů, bylo nám oběma zřejmé, že se v nastalém diplomovém projektu naskýtá unikátní možnost srovnání vývojových strategií těchto dvou linií, které jsou pro nás zajímavé jednak svým odštěpením u bodu zásadní radiace Aktino- a Sarcopterygních obratlovců, svou odlišnou kraniofaciální morfologií, či v neposlední řadě až disparátností svých skeletálních tělních plánů /srv. kupř. pancíř bichira pokrytý šupinami s ultratvrdou vrstvou skloviny na povrchu vs. chrupavčitý poloskelet jeseterů, jejich častou redukcí zubů a až nápadnou rezignací na osifikaci *per se*. Nepřekvapí, že to jsou právě buňky NL, které zakládají většinu těchto hlavových, skeletálních, potažmo tedy kraniofaciálních znaků a vidíme-li společně s autory přelomových studií /vykazovaných kupř. i na držtičkách nebohých Darwinových pěnkav/ kraniofaciální diversitu obratlovců v mezihrách molekulárních signálů a interakcích mezi embryonálním hlavovým epitelem na straně jedné a buňkami NL na straně druhé, pak tedy stačí komparativní analýzou popsat právě migraci a morfogenezi buněk NL u fenotypově odlišných druhů plus jejich následnou kondenzaci do jakýchsi zárodečných center, abychom v kontextu známých molekulárních signálů z epitelu rozklíčovali tyto zdroje kraniofaciální diversity (nás) obratlovců, či alespoň se k této výspě poznání velmi výraznou mírou přiblížili.

Původní představa byla, že oba druhy podrobíme hlavně analýze pomocí SEM po strhnutí vnější epidermis kvůli visualisaci a následné pseudokoloraci migračních proudů NL. Tato technika je však extrémně náročná na množství spotřebovaného embryonálního materiálu a také na vlastní experimentální přípravu: jen si představte, že drobná embrya se musejí zafixovat k podložce, pomocí jemných nástrojů musíte pod stereomikroskopem mechanicky odstranit povrchový ektoderm při současném intaktním zachování všech dalších tkáňových rozhraní stále ve vlhké komůrce, aby jste následně studovanou kuličku podrobili kritickému vyschnutí na prach, jejímu pokovení a přenesení pod SEM – a to vše při současném zachování intaktnosti tkání min. na buněčném rozlišení! Honza se tohoto zdařile ujal /přičemž už jen v této větě je schován více než rok intenzivní práce v labu!/, metodu si adaptoval pro svá embrya a dnes můžeme prohlásit, že

jsme jedna z mála laboratoří, která tuto složitou techniku zdárně využívá. Honza touto technikou odhalil prioritní data o migraci a mnoha fázích biologie buněk NL, aby však postupně svou analýzu rozšířil na celou plejádu technických přístupů (viz též), z nichž sice žádný není ultimátní, nicméně jejichž překrytím jsme dostali poměrně plastický a v mnoha případech detailní pohled na buňky NL v kontextu jinak nesnadno pochopitelné embryogeneze studovaných druhů. Tady je důležité zmínit Honzou objevené a opravdu nečekané netriviality embryonálního vývoje bichira i jeseterů – všechny ty emigrace buněk NL ještě před uzavřením n.trubice, n.trubice obklopená mesodermem neumožňující injikace této populace a tady ani *in-vivo* sledování NL, celkové rozprostřené a nepříjemně mesenchymatický stav hlavového mesodermu jesetera a jeho obludně velké hlavové kavity stejně jako obrovské množství zásobního žloutku – to všechno bylo sice pro mě osobně objevné a vzrušujícímě nové, pro Honzu to však primárně představovalo systematické a často i nepřekonatelné problémy analýz.

Honza - popoháněn frustrací, aby se se svými daty dostal na úroveň modelových druhů - postupně pro svůj výzkum použil téměř všechny technické přístupy, které náš lab nabízí a svými daty otevřel či znejistil mnoho standartních pravd o buňkách NL (srv. migrace před - po uzavření n. valů; typ mesenchymatické migrace a pod). Kritické zhodnocení DP nechávám na oponentce, zde bych však přeci jen ještě shrnul, že Honza Štundl mimo obrovské práce odvedené při odchovávání embryí dvou nemodelových druhů a starosti o adultní chovný materiál etc si technicky vyzkoušel mnoho odlišných přístupů a vždy byl zapáleným studentem, který v neposlední řadě něco zásadního objevil (*co, bylo řečeno*). Doufám, že v připravovaném doktorském projektu se ještě navíc stane naším specialistou na fate-mappingové přístupy, která nám umožní *in-vivo* sledování našich oblíbených buněk a tedy rozklíčování vývojových procesů až do detailů, v kterých, jak známo, bývá zakopán pes nejen kraniofaciální diversity. Když buňky NL dokážeme vysledovat během jejich poslední fázi migrace až do oněch „základů“ tváře a toto poznání spojíme s expresními daty z vyvíjejícího se faciálního ektodermu, dostaneme naše analýzy opravdu až na úroveň rozklíčování zdrojů naší kraniofaciální diversity - již teď se tedy dozajista můžeme těšit na další pokračování této úspěšné ságy. S předloženou DP jsem spokojen a jako školitel ji mohu radostně doporučit k vaší pozornosti a obhajobě.

V Praze, 17. září 2013

