



Praha, 1. května 2016

Oponentský posudek na doktorskou disertační práci:

"Úloha transkripčního faktoru *Tcf711* a signalizační dráhy Wnt/beta-katenin během diferenciaci hlavového ektodermu"

Předložená disertační práce Mgr. Jana Maška má přibližně 130 stran textu, včetně dvou přiložených vědeckých článků jako appendix, z nichž u každého je jasně deklarována autorova (nemalá) participace. První, již uveřejněné vědecké sdělení, vyšlo v *BMC Dev. Biology* a Jan Mašek je zde druhým autorem. Dalším appendixem disertace je pak ms v (zdá se) poslední fázi před akceptací v prestižním časopise *Development*, kde je J. Mašek prvním autorem. Z přiloženého a značně detailního *Autoreferátu* je však ještě navíc zřejmé, že se pretendent za (necelých) šest let svého doktorského studia podílel na dalších čtyřech zajímavých publikacích ve významných časopisech oboru (*viz též*). Je tedy s podivem, proč tyto již vyšlé vědecké články nejsou do disertace přímo zavzaty, ač se bez výjimky jedná o témata v zásadě vlastní autorově tématu (*Wnt* regulace). Byly tyto články tedy použity k získání jiného titulu? Na stranu druhou, zmiňovaný článek v *BMC Dev. Biology*, který je v disertaci prezentován jako první appendix, se svým zaměřením autorova tématu týká *spíše* vzdáleněji, nebo se mýlím?

Práce je formálně koncipována klasickým způsobem, tzn., že už její průvodní část včetně diskuse je napsána dostatečně kvalitně, takže funguje nezávisle od přiložených (či zde spíše nepřiložených) a(-však) mimořádně kvalitních publikací (*viz též*). Zřejmě již patří k dnešní profesionalitě, že anglický abstrakt má vyšší gramatickou a lingvistickou úroveň, než ten český. Nicméně práce je celá psána profesionální angličtinou a čte se velice pěkně i ne-specialistovi, a nejsou opomenuty ani zajímavé evoluční kontexty. Práce, zkoumající role transkripčního faktoru *Tcf711* a signalizační dráhy Wnt/beta-katenin během diference hlavového ektodermu, je umně uvedena kapitolami o molekulárních detailech této regulace a následné diferenciaci vznikajícího hlavového ektodermu embrya. Graficky oceňuji zejména finální a originální schéma kapitoly Úvod (*Fig. 5*), které tyto vztahy pěkně ilustruje. Úvod je řádně zacílený, takže se brzy a poměrně jasnořivě vyjeví potřeba zkoumání právě tohoto transkripčního represoru na právě našem modelovém organismu, což je ještě dále upřesněno v Cílech, resp. v Dílčích cílech této práce. Metodika, resp. experimentální postupy využité v prezentované práci, jsou popsány stylem, který nezapře zběhlost v přípravě vědeckých manuskriptů a celková úroveň metodiky zase nezapře zkušenosti UMG, resp. Odd. transkripční regulace, resp. tedy um Laboratoře Dr. Kozmíka.

Cíle práce jsou rozděleny na dvě kapitoly, které poměrně samostatně hodnotí manipulaci *Tcf711* v anteriorním neurálním valu a v neurální liště vs. v pre-plakodální oblasti a během následné diferenciaci oční čočky. Zatímco první kapitola je svým obsahem totožná s

ms v *Development*-u, druhá kapitola je uvedena jako kompletně nepublikované výsledky. Nutno dodat, že kvalitně se mi zdají obě kapitoly velmi podobné, koncizní a rozhodně na vysoké úrovni. //Opět se však vtírá otázka o onom prvním appendixu-článku v *BMC Dev. Biology*, jehož souvislost s takto nadefinovanými cíly se zdá být dále méně jistá.// Prezentované výsledky jsou značně komplexní, získané primárně analýzou 11-ti transgenních myších kmenů v kombinaci s ISH, reportérovými eseji, imunohistochemií, Western-bloty, či DNA-microarray. Zásadním počinem byla analýza za pomoci myší linie *AP-2-alfa-Cre* namísto klasické *Wnt-1-Cre* linie, která neumožňovala analýzu dějů před vlastní indukcí buněk neurální lišty a jejíž dřívější využívání vedlo k nesprávným náhledům na druhově-odlišné nastavení GRN. Stručně řečeno, autorovi se podařilo experimentálně-geneticky prokázat, že *Tcf711* v funguje jako represor signální dráhy Wnt/beta-katenin a jeho fyziologická aktivace rozhoduje o řádné diferenciaci neurálního ektodermu, že tedy chrání anteriorní neuroektoderm před jeho konverzí k osudu buněk neurální lišty. Druhá kapitola pak toto téma dále rozvíjí analýzou diferenciální genové exprese studovaných buněk za pomoci buněčného sortingu a následným diferenciálním zkoumáním expresních profilů na čipu. Tato analýza přináší některé nové globální výsledky týkající se i dalších oblastí a specificky se pak autor věnuje detailům vývoje čočky za pomoci transgenní linie *Lens-Cre*, což umožnilo odhalit další partikularity této regulace. Obsahově i informačně je značně nahuštěná i poslední kapitola Diskuse, která se přes to pěkně čte a která - světe div se - končí evolučním konstatováním, že popsaná synergie této kaskády může umožňovat jemnými posuny modulování všech těchto třech nesmírně důležitých a typicky obratlovčích entit (ANP, NC PPR, tedy forebrainu, neurální lišty a plakod). Nahlíženo evolučně jinak můžeme tedy konstatovat, že jemná modulace jedné konkrétní kaskády může umožnit jak evoluční změny či posuny, tak zároveň zachovat vlastní existenci těchto entit a A-P identitu embryonální neurální tkáně.

Celkově tedy předložená práce přináší mnohé nové, technicky nesmírně propracované a rozhodně zajímavé výsledky, které detailně experimentálně vymapovaly prostoro-časovou regulaci *Tcf711* a její vliv na progresivní diferenciaci předních ektodermálních tkání v myším embryu. Nemám nejmenších pochyb o získaných zkušenostech a značné technické vyspělosti Mgr. Jana Maška, jakožto i vyzrálosti předložené disertační práce, která tak splňuje podmínky pro udělení titulu Ph.D. Radostně ji tedy mohu doporučit k obhajobě, k čemuž ještě dodávám nezbytné gratulace školiteli i konzultantovi před plně nastoupenou jednotkou.



Robert Černý, Ph.D.

Charles University in Prague,
Head of the Vertebrate Zoology Research Group
Vinicna 7, 128 44 Prague, Czech Republic
robert.cerny@natur.cuni.cz 00420 22 195 1850