

Oponentský posudek na magisterskou práci Anežky Kupkové (2024): Gastrocoelní střešní deska jako organizátor levo-pravé asymetrie jesetera

Hodnocení výsledků z hlediska tvůrčího přínosu

Magisterská práce Anežky Kupkové přináší důležité poznatky o embryonálních strukturách, které hrají klíčovou roli v organizaci levo-pravé asymetrie u dosud málo prozkoumaného druhu – jesetera malého, reprezentujícího ne-teleostní paprskoploutvé ryby. Autorka se věnovala důkladné analýze těchto struktur prostřednictvím snímků z elektronového a fluorescenčního mikroskopu, včetně jejich analýzy, a farmakologické inhibici klíčových proteinů, jako jsou proteiny Nodal anebo H+K+-ATPáza. Klíčová hypotéza, že organizátor levo-pravé asymetrie u ne-teleostních paprskoploutvých ryb se zásadně liší od Kupfferova váčku u teleostů a spíše připomíná gastrocoelní střešní desku (GRP) u obojživelníků, byla experimentálně potvrzena. Tento objev považuji za významný a aktuální, s potenciálem pro publikaci ve vědeckém časopisu.

Celkově je práce velmi kvalitní, a to nejen na úrovni magisterské diplomové práce. Výsledky jsou podle mého názoru excelentně zpracovány a prezentovány, což dává této práci velký potenciál pro publikaci v odborném časopise. Práce je metodicky bohatá a dosahuje vysoké úrovně z hlediska použitých technik a jejich zpracování. Rozsah a kvalita provedené práce jsou důkazem nadprůměrné péle a hlubokého zaujetí pro výzkum. Jako oponent konstatuji, že tato magisterská práce dosahuje takové úrovně, že mi nezbývá než se zaměřit pouze na drobné připomínky.

Formální kvalita předloženého spisu

Formální stránka práce je na velmi vysoké úrovni, včetně doprovodných obrázků a grafických schémat, které jsou vhodné pro recenzní řízení ve vědeckých časopisech.

Jazyk

Práce je napsána bez gramatických chyb a formulačních problémů, s minimem překlepů. Jazyková stránka je zpracována velmi dobře, což přispívá k celkovému vysokému vědeckému standardu celé práce.

Hodnocení částí předkládaného spisu

1. Literární přehled

Literární přehled pokrývá širokou oblast, od gastrocoelní střešní desky u žáby rodu *Xenopus* přes problematiku cílů a molekulárních hráčů signalizačních drah až po Kupfferův váček u nadřádu ryb *Teleostei*. Autorka prokazuje široký rozhled a schopnost práce s literaturou, přičemž se vyvarovala nepřesností v oblastech, které jsou mi blíže známy. Literární přehled je doplněn řadou obrázků včetně solidního popisu, který vhodně uvádí čtenáře do dané problematiky.

Připomínky: Doporučil bych však na konci každé podkapitoly (např. 2.1.2 nebo 2.2) přidat krátké shrnutí, tzv. conclusion statement/sentence či paragraph, které by čtenáři pomohly lépe pochopit o čem byla řeč a taky navázat na další části kapitol. Jako příklad dobře zpracovaného přechodu mezi kapitolami mohu uvést kapitolu 2.5, kde text plynule navazuje

dále. Dále by bylo vhodné, aby byla stádia u žáby drápatky psána s označením „NF“ podle standardizované nomenklatury Nieuwkoop and Faber.

2. Materiál a metody

Práce je metodicky velmi bohatá, zahrnující širokou škálu technik od elektronové mikroskopie po imunobarvení a *in situ* hybridizace a další tzv. postprodukční analýzy. Metody jsou dokumentovány podrobně a věcně, přičemž text je formulačně velmi dobře zvládnutý.

Připomínky: Mám pouze malou výtku ohledně lepší specifikace podmínek, například co se týče dostatečného/nedostatečného signálu pro použité protilátky, jako je síla laseru apod. v tabulce 4.1.

3. Výsledky

V této části autorka prezentuje celkem 21 obrázků a grafů, což představuje zajímavý objem dat. Výsledky jsou zpracovány na vysoké metodické úrovni, včetně vynikající statistické analýzy, zejména grafů úhlů, které považuji za velmi atraktivní. Každý prezentovaný obrázek by mohl být publikován, což svědčí o pečlivosti a vysokých nárocích, které autorka na svou práci klade. Prezentace dat je celkově tedy pečlivá a nadstandardně graficky zpracovaná, přičemž zejména musím vyzdvihnout práci s grafickým editorem Inkscape, pomocí kterého jsou krásně zobrazena embrya. Zejména závěrečný obrázek 5.21 hodnotím jako výjimečně zpracovaný a vhodný jako grafický abstrakt pro vědecký časopis.

Připomínky: Pro magisterskou práci to může být dostačující, ale pro vědecký článek bych doporučil zvýšit počet embryí pro jednotlivé podmínky. U obrázku 5.5, kde jsou uvedeny 2-4 embrya, bych navrhol zvýšit počet na přibližně 20-30 embryí, aby byly výsledky (statisticky) průkaznější.

4. Diskuse

Diskuze je zřejmě nejsilnější částí celé práce. Autorka v ní prokazuje svou vyzrálost a schopnost kriticky hodnotit získaná data. Celkově diskuse svědčí o tom, že autorka má přehled o současném směřování výzkumu a že dokáže na základě svých nálezů formulovat nové hypotézy k dalšímu testování. Nemám zde žádných připomínek a blahopřeji autorce k tomuto výkonu.

Otázky do diskuse

1. Na str. 6 píšete, že protein Dishevelled aktivuje i Wnt dráhu planární buněčné polarit (myšleno u obratlovců). Mohla byste prosím demonstrovat, jak si tuto aktivaci představujete? Mám konkrétně na mysli to, že formulace textu „Dishevelled aktivuje Wnt dráhu planární buněčné polarit“ patně pochází z literatury ohledně octomilky, ale zajímalo by mě, jak to autorka vnímá s aktivitou této nekanonické Wnt dráhy a proteinem Dishevelled u obratlovců.
2. V obrázku 5.4 vlevo, co je zdrojem červeného signálu pro ac. α -tubulin mimo vyznačenou plochu? Stejný signál se mimo jiné objevuje jednou i ve vyznačené ploše. Zajímalo by mě, jak tento jev interpretujete.

3. V rámci výsledků, neplánovali jste místo farmakologických inhibitorů i jiné přístupy, například injikování nukleových kyselin kódujících dominantně negativní konstrukty, např. proteiny Nodal signalizace?
4. Na str. 49 uvádíte, že „*Jako hlavní rozdíl bych uvedla, že u GRP drápatky se struktura u většiny jedinců nachází anteriorně od blastoporu, tedy blastoporus není jeho přímou součástí (Blum et al., 2009a). Naproti tomu u jesetera jsme u každého embrya pozorovali strukturu zahrnující celý blastoporus (obr. 5.6).*“ Mohla byste zmínit několik hypotéz/domněnek ohledně toto, co za tímto rozdílem v lokalizaci blastoporu může být?
5. V závěru píšete, že „*Experimenty naznačují, že Nodal dráha nemusí být jediná dráha při determinaci levo-pravé asymetrie a pravděpodobně interaguje s další signální dráhou nezávisle v každém levostranném či asymetrickém orgánu jesetera.*“ Které signální dráhy máte tedy na mysli?
6. Doplnující otázka: Pokud byste měla více času a finančních prostředků, jakým směrem byste v tomto výzkumu pokračovala? Které další otázky a hypotézy byste ráda testovala v budoucnu?

Závěrem lze říci, že práce je vynikající vizitkou pro budoucí působení autorky v akademické sféře. Anežka Kupková podle mého názoru prokázala, že je schopna získat data vysoké kvality, pracovat velmi usilovně a zároveň kriticky hodnotit svá zjištění.

Tuto práci proto doporučuji k obhajobě a hodnotím ji nejlepším možným hodnocením.



Mgr. Jakub Harnos, Ph.D.
Odborný asistent

V Brně dne 29. srpna 2024

Masarykova univerzita | Přírodovědecká fakulta
Ústav experimentální biologie | Sekce fyziologie živočichů a imunologie
A: Budova D36, místnost 1S16 | Kamenice 5 | 62500 Brno | Česká republika
T: +420 549 49 4465
E: harnos@sci.muni.cz
Tw: https://twitter.com/Jakub_Harnos