



Ústav živočišné fyziologie a genetiky
Akademie věd České republiky
Doc. RNDr. Marcela Buchtová, Ph.D.

Datum	10. 9. 2024
Oponent	Doc. RNDr. Marcela Buchtová, Ph.D.
Instituce	Ústav živočišné fyziologie a genetiky, v.v.i., Brno, ČR
Jméno studenta	Bc. Jan Vintr
Název práce	Role kyseliny retinové ve vývoji faryngeálního aparátu axolotla

Hodnocení vědecké kvality práce

Diplomová práce Jana Vintra se zaměřuje na zapojení signalizace kyseliny retinové do vývoje segmentární identity faryngových oblouků u axolotla. V rámci této práce byly stanoveny 3 hlavní cíle, které byly dosaženy. Aplikace syntetických inhibitorů receptorů kyseliny retinové vyvolala u axolotla změny v počtu vnějších žaber, přičemž došlo k jejich vzniku i na čtvrtém branchiálním oblouku, který běžně žábry nenese. Dále byly pozorovány změny v počtu chrupavčitých elementů hyobranchiálního skeletu.

Literární přehled je napsaný stručně a výstižně a zahrnuje obecné aspekty související s vývojem segmentace těla obratlovců, včetně jeho molekulárních regulací. Více se zaměřuje na oblast faryngu a jeho jednotlivé deriváty, přičemž tyto struktury jsou podrobně studovány i v samotné experimentální části. Dále představuje zapojení signalizace kyseliny retinové do segmentace rhombencefala a končetin. Literární přehled tvoří kvalitní úvod do studované problematiky a zahrnuje klíčové publikace v oboru.

K experimentální práci byly využity klasické přístupy experimentální embryologie, přičemž u embryí axolotla byl testován vliv na vývoj hned několika inhibitorů receptorů kyseliny retinové. Rastrovací elektronová mikroskopie byla využita pro studium externí morfologie a barvení alcianovou modří pro determinaci změn skeletogeneze za experimentálních podmínek. Dále byly použity metody molekulární biologie jako *in situ* hybridizace, či imunohistochemické přístupy. Student prokázal schopnost využít k analýzám rozmanité techniky, které mu zároveň umožnili více provázat jednotlivé výsledky.

Během řešení projektu bylo provedeno velké množství experimentů zahrnujících dostatečné počty biologických opakování, což umožnilo provedení komplexních analýz a získání velmi kvalitních výsledků. Zejména bych chtěla zmínit, že výsledky jsou prezentovány prostřednictvím velmi pečlivě zpracované obrazové dokumentace na 41 tabulích, které precizně mapují výsledky jednotlivých analýz i experimentů. Fotodokumentace zahrnuje i celou řadu detailních pohledů z rastrovacího elektronového mikroskopu, které přesvědčivě dokumentují změny faryngeální oblasti. Roněž oceňuji, že obrazová dokumentace je



Ústav živočišné fyziologie a genetiky
Akademie věd České republiky
Doc. RNDr. Marcela Buchtová, Ph.D.

zpracována v publikační kvalitě a tedy bude představovat solidní základ pro budoucí manuscript.

Na druhou stranu však musím zmínit, že samotné výsledky jsou bohužel popsány velmi chaoticky a většinou bez bližšího vysvětlení mezikroků či myšlenkových postupů. Rovněž bych v popisu výsledků doporučila méně akcentovat skutečnost, o které číslo experimentu přesně šlo a spíše se soustředit na podstatu jednotlivých experimentů, jakou otázku plánoval daný experiment zodpovědět, či co bylo jeho faktickým cílem.

Souhrnně lze však říci, že v diplomové práci bylo prokázáno, že se kyselina retinová podílí na stanovení anteroposteriorní identity faryngeálních segmentů a tedy výsledky získané v projektu Jana Vintra jsou podstatným rozšířením současných poznatků o procesech regulujících vývoj faryngeálního aparátu.

Tímto prohlašuji, že práce splnila všechny formální požadavky kladené na diplomovou práci, podporuji tuto tezi pro veřejnou obhajobu a jako výslednou známku navrhuji 2 (velmi dobře).

Drobné komentáře

V textu je velké množství překlepů, popřípadě chybí písmena či slova (v podstatě na každé straně).

Není obvyklé dávat obrazové tabule jako samostatnou kapitolu za výsledky, bývají spíše součástí samotných výsledků, nebo se umísťují samostatně na úplném závěru práce v přílohách.

“Protilátkové barvení struktur” není ideální termín, protilátkou nic nemůžeme nabarvit. Jak byste jinak kapitolu mohl nazvat?

Stejně tak např. imunohistochemie svalů, nervů.. zní spíše jako slang - jak by bylo možné nahradit?

Názvy obrazových tabulí nejsou ideálně zvoleny, např. “Experiment 1” nepomůže čtenáři v orientaci – bylo by lépe uvádět fakta, co na obrázku právě ukazujete.

Kde je možné, je lépe využívat české ekvivalenty (próby – sondy, pronefrický duktus - vývod, kanál)

Obrázek 3 – je zde neobvyklé uspořádání popisů jednotlivých obrázků: b), a), c)

Na str. 41 je zmíněno, že byly nejprve testovány specifické inhibitory jednotlivých receptorů, ale bez uvedení jakých inhibitorů se to týká a jaké receptory byly cíleny? Dále píšete



Ústav živočišné fyziologie a genetiky
Akademie věd České republiky
Doc. RNDr. Marcela Buchtová, Ph.D.

“AM580, specifický inhibitor RAR α , se ukázal ve všech koncentracích (2,5 μ M) jako bezprostředně letální.” Není jasné zda jen v koncentraci 2,5 μ M, či v jakých jiných koncentracích jste pozoroval letalitu.

Str. 41 “Další experimenty s chemikáliemi, u nichž nebyla nalezena bezpečná koncentrace, nebyly provedeny ... “ Jaké experimenty? S kterými chemikáliemi?

Str. 42 “Na struktuře se ale nenacházejí žaberní filameny ani žádné další vnější znaky.” Není jasné, co touto větou chcete říct – můžete dovysvětlit?

Str. 44 “skeletální koncentrace chondrocytů barvitelných alciánovou modří” – zde jde o nepřesnou terminologii – jak byste nahradil?

Některé informace jsou zbytečné v kapitole výsledků, patří spíše do metod, např.: na str. 42 “To v praxi znamená, že 2 a 4 μ l 4 mM roztoku AGN194310 v DMSO byly rozpuštěny v 10 ml Steinbergova roztoku (oddíl 2.1)”

Otázky pro diskuzi při obhajobě:

Str. 10 píšete „U obratlovců totiž segmentární členění vykazuje rombencefalón, trupové somity a farynx“. Jsou i nějaké další struktury, které u obratlovců během vývoje vykazují segmentaci?

Str. 13 Čím se liší somitoměry vznikající v hlavové části embrya, že je nelze považovat za plnohodnotné segmenty?

Str. 13 Popisujete, že transkripční faktory určují migraci buněk neurální lišty, nicméně základní princip regulace migrace je postaven na jiném principu. Můžete ho stručně doplnit?

Str. 16 Jak je myšlena následující věta? “Ve skupině Tetrapoda se počet branchiálních oblouků redukoval maximálně na čtyři a tudíž mají Tetrapoda celkově šest faryngových oblouků”

Můžete stručně sumarizovat, co považujete za nejvíce signifikantní příspěvek Vaší práce pro obor a zdůvodnit jeho potenciální dopady?

Podpis