

POSUDEK OPONENTA HABILITAČNÍ PRÁCE

Masarykova univerzita

Uchazeč

Mgr. Jan Křivánek, Ph.D.

Habilitační práce

Kontinuálně rostoucí řezáky a morfogeneze zubu

Oponent

doc. MUDr. Tomáš Kučera, Ph.D.

Pracoviště oponenta, instituce

Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Ústav histologie a embryologie

Habilitační spis Mgr. Jana Křivánka, Ph.D. staví na sedmi stěžejních a tematicky souvisejících publikacích, které jsou všechny *in extenso* k habilitačnímu spisu přiloženy jakožto jeho nedílná součást umožňující se do nejmenších detailů seznámit s teoretickým pozadím, metodikou a především výsledky autorovi práce přibližně z posledních pěti let. Jedná se vše o práce publikované v kvalitních a špičkových mezinárodních časopisech. Pět článků jsou publikace původních výsledků, z nichž dvě jsou prvoautorské a u jedné je Mgr. Křivánek korespondujícím autorem. Dále je součástí habilitační práce kapitola v knize a jeden přehledový článek. Jednotlivým tématem habilitačního spisu je vývoj zubů, který je sledován s primárním zaměřením na pochopení zákonitostí vývoje lidského jedince. Tyto zákonitosti jsou však převážně sledovány na zvířecích experimentálních modelech a jejich obecná platnost je dále ověřována v práci na poli moderně pojaté srovnávací embryologie a morfologie (Landová Šulcová et al., 2020).

Z výše zmíněného vyplývá, že autor se ve své práci zabývá tématem velmi aktuálním, které má významnou odezvu v odborné společnosti.

Co se rozsahu habilitačního spisu týče, má celá práce i s přílohami 175 stran. Vlastní stať pak sestává především z 31 stran teoretického úvodu a 10 stran komentářů k jednotlivým stěžejním publikacím. Součástí spisu je i seznam zkratk a obrázků (ve stati samotné jsou tři) a na konci je na jedné straně připojen závěr. Seznam použité literatury v rámci habilitačního spisu zahrnuje 76 citací.

V teoretickém úvodu se autor věnuje nejprve vývoji tvrdých tkání zubu – skloviny a především dentinu, kterým se autorovy práce zabývají především. Autor dále představuje kontinuálně rostoucí zub, který se mu stal důležitou modelovou strukturou pro výzkum mezibuněčných interakcí a vývojových mechanismů. S tím také souvisí probíraná důležitá otázka kmenových buněk, a to jak epitelových, tak mezenchymových, zejména z pohledu jejich niche. Pro studium kmenových buněk se používají přístupy "lineage tracing" a transkriptomika na úrovni jednotlivých buněk single cell RNA seq. Habilitační spis

neobsahuje zvláštní oddíl věnovaný využívaným modelovým organismům a metodám, takže tyto dvě kapitoly o metodice jsou vlastně součástí úvodu. V rámci svých originální prací Mgr. Křivánek využíval obrovskou paletu metodických přístupů molekulárně biologických, bioinformatických a jiných, jakož i vícero modelových organismů. Za jednu z mála slabín této habilitační práce proto považuji absenci zvláštní kapitoly se zaměřením na metody. Nikoliv na jednotlivé technické podrobnosti uvedené v přílohách, ale spíše kritický pohled na použité přístupy, který by umožnil i nezavěšenému čtenáři spisu snadněji pochopit smysl jejich použití, jejich výhody a limity.

V oddíle „Komentáře k přiloženým publikacím“ autor habilitačního spisu postupně představuje jednotlivé stěžejní práce.

Z těchto kapitol bych si dovilil vyzdvihnout zejména následující části:

- 1) Práce s názvem: „Dental cell type atlas reveals stem and differentiated cell types in mouse and human teeth“ představuje jedinečnou studii, která přináší časové a prostorové mapování vzniku, migrace a diferenciac buněčných populací při vývoji savčího zubu. Nálezy s využitím scRNA-seq byly doplněny o imunohistochemickou lokalizaci buněčných populací *in vivo*. Za důležitý výstup této práce považuji zpřístupnění dat ve formě interaktivní, veřejně přístupné online stránky obsahující expresní informace z jednotlivých vzorků, včetně analýzy jednotlivých hlavních skupin buněk.
- 2) Vztah mezi dentinem a přilehlým typem zubního epitelu byl studován v rámci publikace „The development of dentin microstructure is controlled by the type of adjacent epithelium“. Bylo demonstrováno, že poloha vyvíjejících se odontoblastů vzhledem k sklovinnému a kořenovému epitelu určuje mikrostrukturu této tkáně v kontinuálně rostoucích řezácích. K této studii autor využil myšího kmene DSPP-Cerulean/DMP1-Cherry, na jehož vytvoření se v rámci širšího kolektivu podílel a který byl též odpublikován. Indukční vliv různých typů zubních epitelů byl potvrzen také s využitím kmene Spry2+/-;Spry4-/- s ektopicky vyvinutou sklovinou na obou stranách myších řezáků.
- 3) Významné zlepšení metod izolace jednotlivých buněk zubu autor publikoval v práci „Rapid isolation of single cells from mouse and human teeth“. Rychlá a šetrná izolace buněk je zásadním a do značné míry limitujícím krokem pro správné provedení metod single-cell RNA sequencing.

Tyto, jakož i ostatní práce autora habilitačního spisu přinášejí prioritní výsledky, které posouvají směr bádání na poli embryonálního vývoje zubu. Autor se svými pracovníky také

vytvořil důležité datové soubory, které může odborná veřejnost využít k dalšímu výzkumu a také přispěl k rozšíření a vylepšení používaných metod v buněčné a molekulární biologii.

Závěr habilitační práce představuje spíše obecnou úvahu nad významem vědecké práce. Ačkoliv je diskuse součástí většiny jednotlivých příloh, domnívám se, že by bylo jistě na místě diskutovat zejména stěžejní výsledky autorovy práce i v rámci samotného habilitačního spisu, opět s ohledem na čtenáře, který by se rád seznámil s autorovým pohledem na širší kontext publikovaných výsledků spolu s nastíněním dalšího možného směřování výzkumu.

Práce je sepsána čtivě s minimem překlepů a nepřesností (např. na stránce 46 vypadla část názvu metody 10x Chromium). Osobně se přimlouvám za používání češtině bližších a jednodušších přídavných jmen: „epitelový“ a „mezenchymový“ místo „epiteliální“ a „mezenchymální“.

Dotazy oponenta k obhajobě habilitační práce

- 1) Liší se u myších řezáků také složení zubní pulpy na lingvální a labiální straně (inervace, vaskularizace, složení ECM)?
- 2) Mohl by autor vysvětlit pojem dekusační charakter skloviny?
- 3) Ve vaší práci jste si všimli morfologie Tomesových vláken pomocí značení phalloidinem, který znázorňuje aktinový cytoskelet. Hrají roli i další cytoskeletové systémy? Pozorovali jste i zde nějaké odlišnosti v různých typech dentinu?

Závěr

Habilitační práce Mgr. Jana Křivánka, Ph.D., „Kontinuálně rostoucí řezáky a morfogeneze zubu“, **splňuje – nesplňuje** požadavky standardně kladené na habilitační práce v oboru Anatomie, histologie a embryologie.

V Praze

Dne 22.11.2022

.....
podpis