

## Školitelský posudek na diplomovou práci studentky Zuzany Adamové: Proteinové interakční sítě mezi cytoskeletem a membránou ve spermii.

Akrozomální reakce je proces, který během oplození umožňuje průnik spermie skrze obaly vajíčka za účasti lytických enzymů akrozómu. V průběhu akrozomální reakce dochází ve spermii k fúzi vnější akrozomální membrány a plazmatické membrány a k relokaci klíčových fúzních proteinů. Jedním z těchto proteinů je CD46, který se v intaktních spermii nachází v akrozomální membráně a po zahájení exocytózy relokuje do ekvatoriálního segmentu hlavičky spermie, kde dochází k prvotnímu kontaktu spermie s oolemou. Relokaci CD46 zamezuje inhibice aktinu, jehož reorganizace v hlavičce spermie hraje důležitou roli při akrozomální reakci, nicméně není zřejmé, jakým mechanismem CD46 a aktin interagují.

Cílem této diplomové práce bylo studium Ezrinu, jakožto proteinu, který propojuje membránové proteiny s aktinovým cytoskeletem, v kontextu relokace CD46, remodelace aktinu a definování vzájemných interakcí spolu se změnami organizace těchto proteinů během akrozomální reakce spermie. Přítomnost ezrinu v intaktních i akrozomálně zreagovaných spermii byla potvrzena technikou western blot. Imunofluorescenční detekce ezrinu a CD46 byla podrobena kolokalizační analýze, jejíž výstupy podpořily hypotézu, že v intaktní spermii ezrin kolokalizuje s CD46, nicméně během akrozomální reakce je tato sdílená lokalizace narušena. Interakce CD46 a ezrinu byla v intaktních spermii detekována pomocí ko-imunoprecipitace. Na základě doposud získaných výsledků, lze spekulovat, že ezrin zprostředkovává interakci CD46 a aktinu v myší spermii.

Zuzana ve své DP definovala jasně cíle a adekvátně rozebrala téma v literárním přehledu. Kapitoly experimentální část a metody jsou zpracovány přesně a věřím, že dle uvedených protokolů by bylo možné experimenty opětovně zopakovat. Výsledky jsou shrnuty a rozpracovány přehledně a navazují svým uspořádáním na vytyčené cíle. Diskuse je dostatečně obsáhlá a autorka věcně diskutuje a interpretuje poznatky svých vlastních pozorování a získaných výsledků s recentní literaturou. Současně předkládá formou diskuse další experimentální přístupy, které by byla ráda doplnila v případě dostatku času. V kapitole závěr jsou velice stručně shrnuty a dány do souvislostí získané výsledky. Po jazykové stránce oceňuji, že byla DP sepsaná v angličtině. Literární citace jsou dle mého názoru vhodné a práce s nimi adekvátní.

Zuzana Adamová pracovala na své DP intenzivně a svědomitě, a to i navzdory mnohým nepředvídatelným úskalím. Snažila se o hodnocení a interpretaci získaných výsledků a zaujímal aktivní postoj v řešení daného tématu. V laboratoři projevila velikou chuť se učit a samostatně zvládnout nové metody včetně interpretace výsledků, čehož při řešení svojí DP kvalitně využila. Při sepisování práce byla Zuzana velmi samostatná a současně zahrnovala jednotlivá doporučení školitelky a konzultantů, a byla s námi v aktivním kontaktu. Zuzana projevila hluboké znalosti, píli a velké nadšení při práci na svém tématu a následně sepisování textu a věřím, že tyto aspekty se v její diplomové práci odrážejí.

Zuzana Adamová dle mého názoru prokázala při vypracování své DP samostatnost, schopnost logicky uvažovat a dávat výsledky do souvislostí. Získané výsledky budou součástí publikace, kde bude Zuzana spoluautorkou.

Předloženou práci Zuzany Adamové tímto doporučuji k přijetí jako práci diplomovou.

Kateřina Hortová

