

Posudek na bakalářskou práci	
<input type="checkbox"/> školitelský posudek <input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: František Liška Datum: 4. 9. 2019
Autor: Monika Vlčková	
Název práce: Centrioly spermie a jejich úloha v reprodukci	
<input checked="" type="checkbox"/> Práce je literární rešerší ve smyslu zveřejněných požadavků (pravidel). <input type="checkbox"/> Práce obsahuje navíc i vlastní výsledky.	
Cíle práce (předmět rešerše, pracovní hypotéza...) (1) popis a porovnání stavby centriol somatických buněk a centriol spermie, (2) popis a porovnání funkcí centriol somatických buněk a funkce centriol spermie při spermatogenezi a spermiogenezi, dějích v reprodukčním traktu samice předcházejících oplození, při oplození a v rané embryogenezi, (3) objasnění možných příčin sterility souvisejících se stavem centriol.	
Struktura (členění) práce: Text je zpracován na 25 stranách včetně obrázků převzatých z literatury. Obrázků je 7. Těžiště práce je ve dvou kapitolách zabývajících se stavbou centriol (str. 3-14) a funkcí centriol (str. 15-18) doplněných o méně rozsáhlé kapitoly věnující se evoluci centriol, zvláštnostmi centriol u hlodavců a souvislostí centriol s infertilitou.	
Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? Seznam použité literatury obsahuje 144 položek, z toho primárních zdrojů 128, sekundárních 16. Primární zdroje jsou vesměs původní práce publikované v impaktovaných časopisech, sekundární zdroje jsou přehledové články, taktéž z impaktovaných časopisů. Literatura ohledně centriolů je velmi rozsáhlá, zejména s ohledem na jejich obecné funkce v buňce, výběr v posuzované práci je však podle mého názoru dostatečně reprezentativní a pokrývá celou problematiku. Formálně jsem neshledal v citacích žádné chyby, tvrzení v textu jsou vesměs správně odkázána na relevantní zdroj, možné nepodstatné výjimky viz níže.	
Pokud práce obsahuje (nadstandardně) i vlastní výsledky, jsou tyto výsledky adekvátním způsobem získány, zhodnoceny a diskutovány? Práce neobsahuje vlastní výsledky	
Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň): Práce je psána v českém jazyce s dobrou jazykovou úrovní, text je dostatečně čtivý a neobsahuje gramatické nebo zjevné stylistické chyby. Místy by se dalo polemizovat o českých ekvivalentech původních anglických termínů (viz připomínky	

oponenta), nicméně to je nevyhnutelná vlastnost českých odborných textů minimálně od dob národního obrození. Obrázků je 7. Jsou převzaté z literatury, z různých zdrojů, a nemají tedy jednotný styl. Vhodně však doplňují text a přiměřeně ilustrují jeho teze. Pokud bych byl sám autorem, patrně bych použil obrázků více, je to však věc vkusu a naopak by hrozilo riziko zahlcení čtenáře.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Cíle práce považuji za splněné, čtenář z ní získá dobrý přehled struktury a funkce centriol v somatických buňkách, spermii i v zygotě živočichů, včetně některých zvláštností, dotkne se relevantních otázek evoluce spermií a dostane se i na vztah centriol a poruch plodnosti.

Otázky a připomínky oponenta:

Poznámek je poměrně mnoho, spíše však méně závažného a často jen formálního charakteru. Prosim tedy váženou kandidátku bakalářského titulu, aby si učinila užší výběr otázek, aby bylo dostatek prostoru k jejich diskuzi na obhajobě. Omlouvám se za nestandardní citování zdrojů ve svých poznámkách, chtěl jsem šetřit místem a umožnit snadné dohledání na internetu:

Obecná jazyková poznámka na úvod: autorka skloňuje centriolu podle vzoru žena, zatímco oponent je zvyklý na mužský rod, vzor hrad. Krátkým pohledem do Googlu jsem nabyl názoru, že obojí úzus je relativně častý. Obávám se, že v textu níže jsou použity oba způsoby.

anglický abstrakt

„...a cylindrical shape proximal and a distal one...“ není gramaticky správně, lépe by bylo např. říci něco jako „...proximal centriole of cylindrical shape and distal centriole...“ příp. „...cylindrically shaped proximal centriole...“

str. 3

„a růst probíhá přidáváním γ -tubulinových podjednotek k rostoucímu plus konci (McIntosh, 1984)“

To je poněkud překvapivé, možná jen neobratné spojení, neboť γ -tubulin je jako součást " γ -tubulin ring complex" nukleárním místem pro mikrotubuly, včetně centriolárních, ale hlavními stavebními prvky všech mikrotubulů včetně centriolárních, jsou dimery α a β tubulinu, s tím, že v centriolech je ještě speciálně přítomen δ -tubulin a ϵ -tubulin, o nich viz např.: eLife. 2017; 6: e29061. PMID: PMC5653238.

na konci stránky:

9+0 mikrotubulů má 9násobnou rotační symetrii (C9), zatímco 9+2 má díky centrálnímu dubletu jako celek jen dvojnásobnou rotační symetrii (C2) - jak je vidět na obr. 1 práce.

str 4

"Tyto proteiny jsou ukotveny k lumen centrioly" z obr. 1 v Mennella et al. naopak vyplývá, že PCM je kotvena k mikrotubulům, nikoli k lumen centrioly.

"kolovrátek" - vzhledem k málo častému užití názvu pro tuto strukturu v češtině bych doporučil v závorce anglický termín (cartwheel), neboť cartwheel = kolo s loukotěmi, kolovrat je spíše spinning wheel...

str 6

"Ancestrální primitivní spermie měly původně dvě typické centrioly..." ano, ale "pravděpodobně".

str. 7

"členité sloupky" jako překlad původního termínu "striated columns" není přesný, podle analogie s termínem „striated muscle“ i podle skutečného vzhledu by se spíše hodil termín "pruhované sloupky". Odvozeno z lat. „stria“, což je rýha nebo žlábek, tzn. kromě pruhovaných by sloupky mohly být např. ještě rýhované.

str. 9

"V této fázi měří procentriola cca 200 nm a pomocí proteinového komplexu CPAP, který váže dimery γ -tubulinu a Cep110 se prodlužuje a vytváří PCM (Gopalakrishnan et al., 2011)."

Toto tvrzení mi nepříjde doloženo z citované práce, ale mohl jsem se přehlédnout.

str. 10

"centriny jsou malé Ca^{2+} vázající proteiny, které ubiquitinují komponenty centrosomu."

To je ve skutečnosti složitější, centriny sice jsou zapojeny do proteazomální dráhy degradace proteinů, ale rozhodně nemají aktivitu ubiquitin-ligázy, naopak vážou se nespíše na již polyubikvitinované proteiny, viz např.:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2258781/>

str. 11

"kulovité spermatidy" – častěji je nazýváme kulatými spermatidami

"spermatocyty, které mají dvě sady chromosomů ($2n$)" Nikoli, mají jednu sadu zdvojených chromozomů (počtem molekul DNA se tyto stavy neliší, v jedné podstatné věci se však liší).

"mančetu" manchette, slovo francouzského původu, by podle mého mělo být do češtiny převedeno jako "manžeta". Co se týče nekleace mikrotubulů manžet, je zajímavé, že centrobín (centrobin) je schopen vytvářet v somatických buňkách komplexy nezávislé na centrosomu, které umožňují nukleaci mikrotubulů (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4614417/>) a zároveň u mutantů se zkráceným centrobínem je struktura manžety defektní (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2802234/>).

str. 14

"barelovitý tvar" – řekněme česky spíše soudkovitý případně tvar válce

str. 15

"analýzy poskytují důkazy o tom, že společný předek eukaryot vlastnil centrioly s funkcí bazálního tělíska"

slušelo by se doplnit něco ve smyslu "analýza přítomnosti centriolárních/centrosomálních proteinů u dnešních eukaryot..."

str. 16

"Mikrotubulové triplety, stejně jako bazální tělíska, vyžadují pro svou formaci γ -tubulin"

Není mi jasná diferenciace funkce γ -tubulinu mezi mikrotubulové triplety a bazální tělíska, neboť ty také obsahují mikrotubulové triplety. Není to spíše tak, že autorka myslela kromě tripletů centriolu/bazálního tělíska také "obyčejné" mikrotubuly?

"Během G1 fáze centrioly formují řasinku a během S, G2 a M fáze formují centrosom, centriola není schopna formovat tyto dvě struktury najednou (Bornens, 2012)"

Zde by se slušelo zdůraznit, že funkce MTOC zůstává v obou strukturách, i když s ultrastrukturálními odlišnostmi.

"Jednou z možností je migrace centriol z buněčné periferie k jádru"

Domnívám se, i když možná je to z mé strany neznalost, že zvláštní migrace není nezbytně nutná, centrioly se nacházejí v G1 fázi obvykle v blízkosti jádra i v somatických buňkách (viz třeba obr. 3 z Bornens, 2012), a to i přes to, že MC vytváří cilium. Centrioly jsou obvykle s jádrem spojeny (např.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1872037/>). Nicméně u spermií se vytváří silnější specializované spojení, které je nezbytné pro integritu mechanicky silně namáhané spermie - při jeho poškození se bičíky odlomí od hlavičky.

str. 19

Kapitola o evoluci centriol začíná překvapivě historií jejich objevu a určení jejich funkce. Tento oddíl by měl být samostatně, s vlastním nadpisem a umístěn v souvislosti se základním popisem celé struktury.

"U ancestrálních eukaryot byly centrioly přítomné už před miliardou let (Chapman et al., 2000), ale objeveny byly teprve před necelými 150 lety německým biologem Theodorem Boveri."

Doufám, že tato věta není myšlena smrtelně vážně, při jejím čtení jsem měl neodbytnou představu o praotci Čechovi na voze plném mikroskopů (a to je teprve ~1000 let).

"Vývoj centrosomu mezi divergentními eukaryoty odráží buněčné variace lokomoce, sensoriky nebo divize, což je základem adaptivní evoluce organismů"

Tato věta by zasloužila přeložit do češtiny.

"Evolučně konzervovaná devítinásobná struktura centriol dokazuje nejen to, že jsou pro eukaryotické buňky esenciální, ale také to, že jejich přesná struktura je podstatná a k variacím nedochází, anebo jsou nutně škodlivé."

S druhou částí výroku lze souhlasit, první část samostatně nedává moc smysl, navíc by to chtělo uvést zdroj, jedná se nejspíš o tento článek, kde v kontextu zní tento výrok smluplně, ačkoli "ukecaně"

(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4979663/>)

"Pro replikaci buněk s výjimkou samčí meiózy už tak důležité nejsou (Debec et al., 2010). Proč je centrosom pro samčí meiózu zvláště nepostradatelný, zůstává záhadou." Toto je téměř doslova přeloženo z

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4979663/>, a tak by se slušela citace, kromě toho by bylo dobré doplnit kontext, že toto zjištění platí pro acentriolární mutanty r. *Drosophila*.

str. 20

"savčí atypická centriola má bilaterální symetrii podobnou zbytku spermatického krčku a bičíku, což může spermii zvýhodňovat v pohybu a usnadňovat tak navigaci v komplexním prostředí, jako je samičí reprodukční trakt (Avidor-Reiss, 2018)"

Avidor-Reiss jen naznačuje, ale mám za to, že bilaterální symetrie atypického DC je spíše vynucena bilaterálním uspořádáním ostatních součástí bičíku, které může mít význam pro způsob pohybu. Devítinásobná rotační symetrie by tak mohla překážet, na druhou stranu, axonema ji zachovává, nepočítáme-li centrální pár mikrotubulů.

"zda jsou atypické centrioly potřebnou adaptací nebo jestli jsou výsledkem vyvíjeného evolučního tlaku k vytvoření pohyblivějších spermií (Avidor-Reiss and Fishman, 2019)."

Ano druhá možnost je zcela reálná, zdá se např., že platí pro geny na nerekombinujícím se úseku chromozomu Y.

"Dominantními MTOC jsou u hlodavců místo centriol tzv. mikrotubulární můstky, vytvořené v průběhu embryonálních dělení (Zenker et al., 2017)."

Ano, ale jen v časném embryu, což by asi mělo být zdůrazněno, ačkoli hned na následující stránce je to správně uvedeno, cit.: "Typické centrioly, které fungují jako MTOC, se objevují u hlodavců až ve 32-buněčném stádiu buňky (Gueth-Hallonet et al., 1993) a řasinky dokonce až krátce po stádiu 64 buněk (Bangs et al., 2015)."

str. 22

U popisu mutace centrobínu a jeho vlivu na stabilitu spojení hlavičky a bičíku, by možná bylo vhodně uvést, že existují další geny spojené s fenotypem acefalických spermií. Je však pravdou, že se nemusí jednat přímo o funkci centriolů, ale o komponenty, které se s pomocí centriolů a na nich navázaných proteinů dostávají do oblasti spojení hlavičky a bičíku. Jedná se např. o SUN5, protein vnitřní jaderné membrány, který je spojen s kapitem jen nepřímo, patrně prostřednictvím nesprinu 1 v zevní jaderné membráně (jedná se o komplex LINC – linker of nucleoskeleton and cytoskeleton).

str. 23

"terapie pomocí náhrady dysfunkčního centrosomu"

Je zajímavé, že pacienti s mutovaným *SUN5*, jejichž fenotyp je podobný fenotypu potkanů s mutovaným centrobínem - tj. dekapitace spermií - byli úspěšně léčeni pomocí ICSI (<https://academic.oup.com/humrep/article/33/3/372/4796932>). Jak je však patrné z metodiky, pro ICSI byly vybrány vzácně se v ejakulátu vyskytující ještě celistvé spermie, které byly injikovány vcelku i s krčkem a tedy i s oběma centrioly.

"nový vhled do problematiky posledních desetiletí"

rozumí se ve vztahu k biologii centriol, bez přívlastku mi to zní poněkud komicky.

"objev atypických centriol otevírá pomyslné dveře"

Rozumí se atypických centriol spermií

Návrh hodnocení školitele nebo oponenta

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis školitele/opponenta:

František Liška

Instrukce pro vyplnění:

- Prosíme oponenty i školitele o co nejstručnější a nejdůležitější komentáře k jednotlivým bodům (dodržujte zhruba rozsah), tučně vyznačené rubriky jsou povinnou součástí posudku.
- Při posuzování je nutno zohlednit požadavky stanovené pro vypracování bakalářských prací – viz <https://www.natur.cuni.cz/biologie/studium/2018-pravidla.pdf>
- Posudek, prosím, nahrajte ve formátu pdf do SIS k dané bakalářské práci nebo (v případě externích oponentů) zašlete v elektronické podobě na e-mail: zuzana.starostova@natur.cuni.cz. Vytisknutý a podepsaný posudek také zašlete na adresu: **Zuzana Starostová, katedra zoologie PřFUK, Viničná 7, 128 44 Praha 2** nebo **doručte do místnosti 241** či na **sekretariát katedry zoologie**. Podepsaný vytisknutý posudek je nutnou součástí protokolu o obhajobě bakalářské práce a musí být k dispozici nejpozději v den obhajoby.