

## Školitelský posudek na diplomovou práci Bc. Lucie Sadílkové

Název práce: Protein RAB-2A: Jeho lokalizace a funkce v lidských spermích a fertilizaci

Školitelka: RNDr. Pavla Postlerová, Ph.D.

Konzultanka: Mgr. Veronika Páleníková

Cílem diplomové práce Lucie Sadílkové bylo zjištění křížové reaktivity protilátek vyrobených v Laboratoři reprodukční biologie AVČR proti povrchovým proteinům kančích spermíí s proteiny přítomnými v lidských spermích. Z panelu monoklonálních protilátek nejsilněji na lidských spermích reagovala protilátka proti proteinu identifikovanému v extraktu kančích spermíí jako Rab-2A, proto jsme celou práci zaměřili na tento protein. Pomocí několika metodických přístupů se Lucie snažila protein Rab-2A nejprve identifikovat, poté také detekovat a lokalizovat v lidských spermích a extracelulárních vezikulech izolovaných ze semenné plazmy. Izoformy proteinu Rab-2A se jí také podařilo úspěšně detekovat v různé míře také u mužů s rozdílným spermioqramem, kdy by mohl eventuálně sloužit jako marker pro hodnocení kvality ejakulátu. V závěru se také pokusila o vazbu biotinem značenými glykoproteiny lidské *zona pellucida* (ZP) na proteiny izolované ze spermíí.

Velmi dobře si poradila s několika zcela novými metodikami, které nebyly u nás v laboratoři dosud používány, např. právě zmíněnou izolaci extracelulárních vezikul nebo izolaci proteinů z perinukleární théky spermíí. Navíc s úspěchem odzkoušela námi patentovanou metodu separace spermíí s intaktním akrozomem (*patent číslo 308864*). Některé experimenty byly náročnější na biologický materiál, kterým byly převážně lidské spermie, ale také ZP z lidských oocytů. Proto je z nedostatku tohoto vzácného materiálu nebylo možné vícekrát opakovat a patřičně vyhodnotit. Problémem se stala především izolace povrchových proteinů lidských spermíí, kdy poté nebylo možné cíleně provést experiment vazby těchto proteinů na ZP.

Veškeré experimenty diplomantka prováděla samostatně, některé pak pod dohledem konzultantky, včetně přípravy preparátů pro hodnocení lokalizace proteinu Rab-2A ve spermii pomocí superresoluční mikroskopie. Snímky pak byly pořízeny Dr. Frolíkovou, což je uvedeno v poděkování předložené práce. Během sepisování diplomové práce byla Lucie velmi samostatná, především oceňuji její práci s odbornou literaturou při přípravě literární rešerše a během diskuze. Velmi chválím její kritický pohled na své výsledky, který se odrazil především v části diskuze a jasně formulovaných závěrech.

Musím také ocenit aktivitu diplomantky u nás v laboratoři, kdy nám nad rámec své DP pomáhala testovat i jiné protilátky na preparátech lidských spermíí. Byla spolehlivá a vždy přístupná diskuzi.

Závěrem lze konstatovat, že Lucie Sadílková zvládla celou řadu metodik izolace a detekce proteinů. Její výsledky jsou unikátní v identifikaci proteinu Rab-2A v lidských spermích a budou připraveny pro publikování. Lucie pracovala pilně a svědomitě a výsledky své práce dokázala náležitě zpracovat a také vyhodnotit. Domnívám se, že sepsala dobrou diplomovou práci a doporučuji ji k obhajobě.

Dne: 27.1.2022

Pavla Postlerová