

## Posudek diplomové práce

Pavla Matušky

### Úloha checkpoint kinázy 1 během zrání myších oocytů

Práce řeší aktuální téma. Studium buněčného cyklu obecně a meiotického zrání pohlavních buněk zvláště, představuje bouřlivě se rozvíjející oblast bádání. Teoretické poznatky z této oblasti mají i ryze praktické uplatnění, např. v asistované reprodukci v humánní medicíně nebo v reprodukčních biotechnologiích hospodářských zvířat. Úloha checkpoint kinázy 1 během zrání savčích oocytů není prozkoumána a předložená diplomová práce představuje v této oblasti významný příspěvek.

Autor disertace zvládl studium současné vědecké literatury. Dovede z ní načerpat aktuální informace, utřídit je a na jejich základě formulovat jasnou hypotézu. V experimentech pro ověření hypotéz využil adekvátní metody. Uznání si zaslouží široké spektrum technik, které autor zvládl. Vedle kultivace oocytů použil i špičkové metody deplece studovaného proteinu RNA interferencí nebo over-exprese proteinu po mikroinjekci RNA.

Výsledky jsou prezentovány stručně, přehledně, srozumitelně. Při prezentaci jsem poněkud postrádal (např. v grafech) údaje o statistické průkaznosti zjištěných rozdílů.

Práce obsahuje celou řadu zcela originálních zjištění, které poukazují na význam CHK1 kinázy pro meiotické zrání savčího oocytu. Na rozdíl od somatických buněk je role této kinázy při meiotickém zrání jen málo známá.

V diskusi autor prokázal, že získaná experimentální data dokáže velmi přehledně a srozumitelně konfrontovat s nejnovějšími poznatky na tomto poli. Své vlastní výsledky správně interpretuje. Za velký klad považuji fakt, že autor sám poukazuje na problémy a nejasnosti, které se během experimentů objevily a navrhuje jejich možné řešení. Je zřejmé, že ve výzkumu role CHK1 kinázy, a nejen jí, může dále úspěšně pokračovat.

S potěšením konstatuji, že diplomová práce je psána kultivovaným jazykem a také gramatika je na velmi dobré úrovni. Bohužel, to nebývá vždycky pravidlem.

K autorovi práce mám několik dotazů:

- 1) Autor poukazuje na rozdílné výsledky inhibice CHK1 kinázy inhibitorem SB218078 a deplece této kinázy RNA interferencí. V diskuzi klade hlavní důraz při vysvětlování rozdílných efektů na nespecifické účinky inhibitoru SB218078. To je samozřejmě pravda. Jak se ale může na pozorovaném rozdílu podílet i metoda RNA interference, kde je dsRNA injikována do oocyty a ten je pak poměrně dlouho držet v umělém meitoickém bloku pomocí IBMX. Je opravdu RNA interference „jemnější“ metodou, jak autor uvádí? V této souvislosti bych se chtěl zeptat na účinnost RNA interference s ohledem na výslednou koncentraci proteinu CHK1 kinázy.
- 2) Na straně 49 řádek 9 autor uvádí, že protein CDC25A je degradován CHK1 kinázou. V literárním přehledu sice popisuje velmi podrobně vztah mezi CHK1 kinázou a fosfatázou CDC25A, ale proteolytický účinek CHK1 kinázy na CDC25A nezmiňuje. Jak to tedy s onou degradací CDC25A je?

Závěr: Práci doporučuji k obhajobě.

V Uhřetěvsi 12. září 2008

Prof. Ing. Jaroslav Petr, DrSc.

