

## OPONENTSKÝ POSUDEK

Disertační práce Mgr. Matyáše Flemra

„Stabilita mRNA a aktivita microRNA v myších oocytech“

Disertační práce byla vpracována na Ústavu molekulární genetiky AVČR v Laboratoři epigenetických regulací, pod vedením Mgr. Petra Svobody, Ph.D. a plně vychází jak svým tematickým zaměřením, tak metodickým provedením z vědecké náplně této Laboratoře. Disertační práce je vypracovaná v jazyce anglickém a je založena na experimentální práci publikované v pěti primárních publikacích, které byly uveřejněny v renomovaných mezinárodních časopisech v daném oboru.

Práce je uvedena pěti podkapitolami, které čtenáře přehledně a na základě nejsoučasnejších literárních odkazů uvádí do problematiky oogeneze u myši a především do všech fyziologických a molekulárně genetických aspektů přechodu vývojově kompetentního savčího oocyty v zygotu, jednobuněčné, oplozené vajíčko. Jsou připomenuty všechny důležité geny pro formování primordiálních folikulů a folikulárního poolu v savčích ovariích. Jsem rád, že se autor hlásí k názoru, že zásoba samičích zárodečných buněk obsažených ve folikulárním poolu je pro život samičích jedinců definitivní. V úvodu je věnována zasloužená pozornost dvěma stádiím uspořádání chromatinu u myších oocytů s dokončeným růstem, NSN a SN. Tato situace není typická pro všechny savce. Víte, k jakým změnám v kondenzaci chromatinu dochází v průběhu oogeneze u savčích druhů s provokovanou ovulací?

Detailně je popsána růstová fáze savčích oocytů a význam této fáze ve vývoji plně kompetentního oocyty. Pozornost je plně soustředěna na molekulární mechanismy, které umožňují akumulaci maternálních mRNA v cytoplazmě. Tato část literárního přehledu je skutečně komplexní a objasňuje interakci mRNA s klíčovými proteiny do všech detailů. I když to není v přímé souvislosti s tématem práce, přeci jen mi chybí při objasňování růstové fáze oocyty a získávání meiotické a vývojové kompetence jeden odstavec věnovaný rDNA, rRNA a formování ribozomů. V buněčné biologii jedinečná růstová křivka, kdy oocyt o průměru 15  $\mu\text{m}$  v primordiálním folikulu zvětší svůj finální průměr na 70 a u většiny savčích druhů na 120-130  $\mu\text{m}$ , má nepochybně svůj základ v intenzivní aktivitě všech RNA polymeráz a následně v intenzivní translaci na nově formovaných ribozomech. Jaký podíl v těchto biochemických aktivitách tvoří pool maternální mRNA?

Já vím, že s českou terminologií bývá občas kříž, ale oplození meioticky a vývojově kompetentního oocyty a vývoj samčího a samičího prvojádra s první replikací DNA není v mé představě žádný přerod. Jde přece o logický sled událostí na ose fyziologie reprodukce, který zajistí pokračování rodu. Proto bych se přikláněl k tomu, abychom pro anglické „oocyte to zygote transition“ používali raději „přechod oocyty do zygoty“.


Po zásluze je největší pozornost věnována současné problematice nekódujících mikroRNA, které představují zásadní pokrok v pochopení řízení buněčných mechanismů, které vedou od kódující sekvence k translaci a post-translační modifikaci funkčního proteinu. Vyzrálý text této podkapitoly jasně dokazuje, že autor disertace se také aktivně podílel na formulování textu všech pěti publikací, na kterých jsou založeny experimentální výsledky této práce.

Při prostudování přiložených prací je na první pohled zřejmý obrovský metodický vývoj, kterým Mgr. Flemn v průběhu doktorandského studia prošel. I když připustíme pozitivní vliv spolupráce se špičkovými zahraničními laboratořemi, výsledky disertace, které směřují od buněčné úrovně k excelentním přístupům molekulární biologie, zasluhují skutečný obdiv.

I když texty všech kapitol prošly redakcemi kvalitních časopisů, dovoluji si položit následující otázky:

1. Jaký je Váš současný názor na klíčové komponenty signální dráhy, která umožní zahájení masivní translace některých maternálních mRNA (Dcp1a) současně se zahájením jaderného zrání oocytů?
2. Nesporně velmi záslužné jsou výsledky, které objasňují funkci proteinů zodpovědných za odstranění čepičky z 5' konce mRNA a jejich následnou degradaci. Proteiny DCP1A a DCP2, které jsou kódovány maternálními mRNAs a jsou překládány až v průběhu jaderného zrání oocytu byly studovány pomocí siRNA. Usilujete do budoucna o vyřazení těchto genů u myši? Je nesporně zajímavé, že inhibice odstranění čepičky z maternálních mRNAs vede k průkaznému navýšení mRNAs kódujících proteiny důležité v biogenezi ribozomů. Tyto výsledky mohou naznačovat určitý útlum v syntéze maternálních ribozomů. Ve kterém stádiu embryonálního vývoje můžeme očekávat biogenesi embryonálních ribozomů?
3. V současné době byl publikován z Jackson Laboratory zajímavý článek o funkci proteinu „meiosis arrest female 1 (MARF1)“. Setkali jste se také s genem Marf1 ve vašich studiích myšního genomu a transkriptomu?

Disertační práce Mgr. Matyáše Flemn je v mnoha ohledech výjimečná a proto ji plně doporučuji k obhajobě. Přál bych si, abych směl oponovat stejně kvalitní disertační práce z Laboratoře epigenetických regulací i v budoucnu.

  
Prof. MVDr. Jan Motlík, DrSc.