



UNIVERSITA KARLOVA V PRAZE
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA
Katedra buněčné biologie

Ing. RNDr. Vladimír Krylov, Ph.D.
Viničná 7
128 44 Praha 2

tel: 420 2 21951773
fax: 420 2 21951758
e – mail: vkrylov@natur.cuni.cz

Školitelský posudek na diplomovou práci Aleše Peteláka "Vliv ubiquitinace spermií v rámci časného embryonálního vývoje u prasete"

Aleš Petelák svou diplomovou práci vypracoval v laboratoři vývojové biologie, PřF UK v Praze. Cílem práce bylo studium vlivu inhibice oocytárního proteazomálního komplexu na tvorbu prvojader a časný embryonální vývoj po ICSI u prasete. Dřívější studie prokázaly nepřímou souvislost mezi vyšší mírou povrchové ubiquitinace spermií a jejich horší kvalitou z pohledu následného vývoje po oplození. Do současné doby stále není jasné jakou roli a zda vůbec nějakou, hraje ubiquitin na povrchu spermie po průniku do oocytárního prostředí. Logicky se nabízí hypotéza, že povrchová ubiquitinace slouží jako negativní marker pro rozpoznání a degradaci 'nekvalitních spermií' oocytárním proteazomálním komplexem.

Vzhledem k tomu, že důsledkem inibice oocytárního proteazomálního komplexu je neschopnost spermií penetrovat přes zónu pellucidu, bylo nutné provést oplození metodou intracytoplazmatické injekce spermie (ICSI). Tato technika je poměrně značně náročná jak na instrumentální vybavení laboratoře, tak hlavně na manuální zručnost embryologa. Aleš se tohoto úkolu zhostil více než dobře a během jednoho roku byl touto technikou schopen produkovat prasečí blastocysty v počtu a kvalitě srovnatelné s ostatními zavedenými laboratořemi. Vlastní experimenty byly prováděny s inhibotrem MG 132 jehož cílem je 20S proteazóm. Alešovi se podařila potvrdit nezbytnost funkčního proteazomálního komplexu na tvorbu prvojader. Na druhou stranu se ukázalo, že 18-ti hodinové působení MG 132 po ICSI s jeho následným odmytím má signifikantně pozitivní vliv na počet morul a blastocyst ve srovnání s negativní kontrolou v rámci sedmidenní kultivace v médiu PZM-3.

Aleš Petelák zvládl nejen náročné techniky manipulace a kultivace prasečích oocytů a časných embryí, ale byl schopen do experimentů vnášet originální myšlenky a technická

vylepšení. Na tomto místě bych rád zdůraznil, že Aleš patří mezi nejlepší studenty, jaké jsem ve své kariéře školil a s potěšením hodnotím diplomovou práci stupněm výborně.

V Praze dne 5.9.2011

Ing. RNDr. Vladimír Krylov, Ph.D.