

IZOLACE A STUDIUM PROTEINŮ SE ZONA PELLUCIDA VAZEBNOU AKTIVITOU

Michal Zigo zahájil doktorské studium na Biotechnologickém ústavu AVČR v roce 2009. Navázal tak na své předchozí magisterské studium. Téma jeho dizertační práce „Izolace a studium proteinů se *zona pellucida* vazebnou aktivitou“ je jedním z témat řešených v naší laboratoři, která se zabývá izolací, lokalizací a charakterizací proteinů samčího reprodukčního traktu.

Dizertační práce Michala Ziga je složena ze 3 publikací, dvě z nich jsou již publikovány v odborných vědeckých časopisech s impakt faktorem a jedna byla nyní přijata do tisku, v dizertační práci je ve formě manuskriptu. U všech publikací je Michal Zigo hlavním autorem a provedl sám téměř všechny experimenty a tyto publikace sepsal.

Je známo, že setkání gamet a rozpoznání spermie a vajíčka hraje klíčovou roli v reprodukčním procesu. Proteiny přítomné na povrchu spermie po kapacitaci mohou představovat receptory pro vazbu spermie na *zona pellucida* vajíčka. U různých savčích druhů bylo již popsáno několik proteinů nalezených na spermiu, které by mohly tuto vazbu zprostředkovávat. Dosud však nebylo přesvědčivě prokázáno, které z těchto kandidátních molekul skutečně hrají roli v rozpoznání gamet u konkrétních savčích druhů. Důležitým faktem zůstává, že stále nebyly zcela standardizovány metody pro izolaci povrchových receptorů spermie.

Během své dizertační práce se Michal Zigo zabýval izolací proteinů spermií pomocí různých extrakčních protokolů. Takto izolované proteiny charakterizoval na základě obsahu glykoproteinů a enzymových aktivit. Porovnal 2D-elektroforetické profily proteinů izolovaných z ejakulovaných a *in vitro* kapacitovaných spermií a pokusil se nalézt rozdíly. Důležitou součástí jeho práce byla izolace proteinů z povrchu *in vitro* kapacitovaných spermií pomocí kitu a schopnost vazby těchto proteinů s glykoproteiny *zona pellucida* (ZP). Pomocí připraveného panelu monoklonálních protilátek byly vytipovány proteiny s vazebnou schopností k ZP, sledována jejich lokalizace a některé z těchto proteinů byly identifikovány.

Michal Zigo zvládl celou řadu biochemických technik: různé izolační a extrakční metody, SDS a 2D elektroforesu, Western blot, vazebné studie s biotinem značenými ligandy, substrátovou zymografií, fluorescenční mikroskopií. Zcela samostatně pracoval na přípravě všech předkládaných publikací, které jsou v časopisech s impakt faktorem kolem 3.

Michal Zigo při řešení své dizertační práce prokázal, že je schopen samostatné experimentální práce, pracoval pilně a svědomitě a výsledky své práce dokázal náležitě vyhodnotit a vyvodit z nich

závěry. Navíc oceňuji, že si dokázal poradit s mnohdy náročným oponentským řízením především pro časopis Cell and Tissue Research a své experimenty cíleně přizpůsoboval potřebám kvalitního zpracování do vědeckých publikací (kontrolní pokusy). Zcela jistě prokázal schopnost samostatné vědecké práce a nemám tedy žádných námitek proti tomu, aby mu byl po obhájení dizertační práce udělen vědecký titul Ph.D.

V Praze dne 5.11.2014

RNDr. Pavla Postlerová, PhD.