

## Oponentský posudek na magisterskou práci

**Kristýna Kroumanová (2016)**

### **Vliv povrchové ubiquitinace spermií na časný embryonální vývoj u prasat**

Předložená práce se zabývá povrchovou ubiquitinací kančích spermií a jeho vlivem na úspěšnost časného embryonálního vývoje v podmínkách *in vitro*. Výsledky práce popisují fyziologický význam ubiquitinace krátce po oplození oocyту a potvrzují stanovenou hypotézu, že přítomnost extracelulární ubiquitinace spermií negativně koreluje s úspěšností časného embryonálního vývoje u prasat.

#### **Tvůrčí přínos práce**

Předložená práce představuje vědecky unikátní výsledek, potvrzující úlohu ubiquitinace spermií během časného embryonálního vývoje po oplození metodou intracytoplazmatické injekce spermií (ICSI). Práce tak vhodně doplňuje současný stav poznání, založený zejména na práci prof. Petera Šutovského. Mimoto, práce je založena na použití metody ICSI, která představuje nikoliv běžný způsob *in vitro* oplození, což z dosažených výsledků činí vysoce relevantní experimentální data. Z těchto a dalších hledisek lze předloženou práci hodnotit jako mimořádně přínosnou.

#### **Formální kvalita práce**

Práce je na velmi dobré jazykové úrovni. Přesto se v práci vyskytují formální drobnosti, které se vymykají terminologickým zvykům, např. „akrozom“ namísto akrozóm nebo akrosom, podobně „centrozom, chromozom“ apod.

V práci se občas vyskytují obraty blízké slangu – např. „bikarbonát, influx“ apod., popř. nepřesné formulace, např. „špatně sbalený protein“ nebo „jaderná obálka“.

Tyto drobné nedostatky však nejsou nikterak rušivé a rozhodně nesnižují kvalitu předložené práce.

#### **Komentář k jednotlivým kapitolám práce**

##### *Úvod, Literární přehled*

Část literární rešerše je kvalitně zpracovaná, vhodně vysvětluje problematiku a adekvátně směřuje k stanovené hypotéze. Nicméně:

Str. 24: „nízká koncentrace MPF“ udržuje meiotický blok“ – jedná se o nepřesnost, protože za současného stavu poznání je klíčová nikoliv koncentrace ale inaktivita MPF, navíc ta je důsledkem přítomnosti inhibičních faktorů, nikoliv příčinou.

Str. 26: podkapitola o kumulární expanzi postrádá zmínku o fyziologické úloze, natolik významné právě pro oplození.

### *Hypotéza a cíle*

jsou dobře a jednoznačně formulovány.

### *Materiál a metodika*

Tato kapitola je zpracována mimořádně detailně. Vzhledem k obsáhlosti experimentů by bylo vhodné stanovit experimentální design na konci této podkapitoly a mnohé detaily umístit právě sem. Zde několik připomínek:

Str. 40: polemika a vhodnosti zvolené techniky izolace oocytů patří do Diskuze.

Str. 41: chybí koncentrace hyaluronidázy.

Str. 41: chybí informace o použitém kanci (plemeno popř. linie) a ředidle inseminační dávky.

Str. 45: pojmy „nízká/vysoká intenzita signálu“ jsou zavádějící a neumožňují experiment opakovat; v případě kvantitativního ukazatele (kterým intenzita signálu bezpochyby je) by bylo vhodné uvést mezní hodnotu pro ‚nízkou‘ a ‚vysokou‘ intenzitu signálu.

Str. 46: pro imobilizaci spermií bylo použito buď piezo-aktuátoru anebo zlomení bičíku, přestože v předcházejícím textu je zmíněna odlišná úspěšnost obou použitých postupů.

Ani tyto nuance nelze považovat za chyby, které by snižovaly kvalitu práce.

### *Výsledky*

Kapitola výsledků je vhodně zpracovaná a velmi srozumitelně popisuje dosažená experimentální data. Stejně tak popisky grafů a obrázků jsou vyčerpávající a bez chyb.

### *Diskuze*

Podkapitola diskuze je dobře zpracovaná, přesto:

diskuze se v několika pasážích omezuje na pouhé konstatování vlastních výsledků a citace vědeckých prací, avšak bez užší souvislosti. Stejně tak postrádá propojení dílčích výsledků dosažených během řešení této práce. Chybí také vysvětlení možného molekulárního mechanismu ubiquitinu v procesu oplození a časného embryonálního vývoje.

**Předložená magisterská práce představuje soubor jedinečných vědeckých výsledků, které jsou zpracovány na mimořádně kvalitní úrovni. Studentka Kristýna Kroumanová přesvědčivě prokázala schopnost soustavné a svědomité vědecké práce - od osvojení si náročného metodického přístupu přes získávání rozsáhlých experimentálních dat po jejich zpracování a interpretaci. Tímto prací hodnotím nejvyšším možným stupněm a vřele doporučuji k obhajobě.**

Otázky do diskuze:

- 1) Ve své práci uvádíte, že míra povrchové ubiquitinace neovlivňuje úspěšnost tvorby provojader, zatímco je spjata až s dalším vývojem po EGA do stádia blastocysty. Domníváte se, že může být postižená epigenetika zygoty, tj. DNA methylace a histonový kód, stejně jako epigenetické změny v dalších stádiích vývoje? Jak je EGA regulován epigeneticky?
- 2) Můžete krátce objasnit pojem mitofágie (v zygotě) a shrnout úlohu maternálního UPS v tomto procesu? Domníváte se, že by neadekvátní přítomnost paternálního ubiquitinu mohla mitofágií ovlivnit?
- 3) Navrhněte způsob, jakým by mohlo být využito Vámi dosažených výsledků v asistované reprodukci člověka.

V Plzni dne 5. 9. 2016