



**PŘÍRODOVĚDECKÁ
FAKULTA**
Univerzita Karlova

Školitelský posudek na diplomovou práci Kristýny Kroumanové " Vliv povrchové ubiquitinace spermií na časný embryonální vývoj u prasat"

Kristýna Kroumanová svou diplomovou práci vypracovala v laboratoři Vývojové biologie, na Katedře buněčné biologie pod mým vedením. Na tomto místě je ale nutné podotknout, že velkou zásluhu na jejím průběhu a zdárném dokončení má můj Ph.D. student Mgr. Aleš Petelák, který byl v roli odborného konzultanta.

Cílem diplomové práce bylo zjistit, zda povrchová ubiquitinace spermií, která je většinou autorů považována za negativní marker jejich kvality, je nějakým způsobem rozpoznána oocytem s cílem takové spermie degradovat, či minimálně zhoršit následný embryonální vývoj potenciálně méně kvalitních zárodků. Z metodického hlediska bylo nutné v laboratoři ustanovit celou řadu poměrně náročných technik, jako např. kryoprezervace kančích spermií či jejich přístrojové třídění na základě fluorescenčního značení povrchového ubiquitinu. Podle mého názoru nejobtížnější úkol, který před Kristýnou stál, bylo zvládnutí manuálně velmi náročné techniky ICSI, kterou je schopno u prasat v potřebné kvalitě provádět jen pár jedinců v rámci České republiky. Kristýna se v průběhu času ukázala jako talentovaná studentka schopná si výše uvedené metody osvojit během půl roku, což je velmi krátká doba.

Po úvodním zapracování v laboratoři se Kristýna pustila do vlastní experimentální práce. Získané výsledky jasně ukazují na negativní vliv povrchové ubiquitinace spermií na časný embryonální vývoj do stádia blastocysty, kdy zárodky oplozené nízko ubiquitinovanými spermiemi dosáhly tohoto stádia v 17 % případů. ICSI s použitím spermií vykazujících vysokou míru povrchové ubiquitinace vedlo k formování blastocyst pouze v 5 %. Význam povrchové ubiquitinace byl dále podpořen experimenty, ve kterých byl ubiquitinový epitop maskován protilátkou. I zde byl prokázán signifikantně lepší embryonální vývoj.

Kristýna Kroumanová jasně prokázala, že je schopná provádět náročné experimenty, získaná data kriticky interpretovat a uspořádat je do logického celku – předložené diplomové práce, kterou tímto velice rád doporučuji k obhajobě. V případě jejího kladného přijetí a hodnocení komisí bych rád tuto práci navrhl na ocenění.

V Praze dne 12.9.2016

Doc. RNDr. Ing. Vladimír Krylov, Ph.D.