

## Posudek na doktorskou dizertační práci Mgr. Jitky Bolkové s názvem „Jaderná architektura a genová exprese u *Caenorhabditis elegans*“

Předkládaná práce Mgr. Jitky Bolkové se zabývá různými aspekty struktury a funkce buněčného jádra, zvláště pak vztahem mezi jadernou architekturou a genovou expresí. Cílem práce bylo na modelu *C. elegans* studovat rozložení parentálního chromatinu během časně embryogeneze, sledovat dynamiku transkripce během prvních fází meiotického dělení zárodečných buněk a porovnat nukleo-cytoplazmatické poměry zárodečných a časných embryonálních buněk. Ke splnění cílů práce bylo třeba zvládnout řadu pokročilých zobrazovacích metod a navíc vyvinout nové metodické postupy, které by zodpovězení kladených otázek umožnily. V první části práce autorka na živých embryích ukázala, že k mísení mateřského a otcovského chromatinu dochází u *C. elegans* ve čtyřbuněčném stadiu a dále pak popsala zajímavý fenomén stereotypní rotace časného embrya. Výsledky byly shrnuty v článku v *International Journal of Developmental Biology*. V druhé části práce se autorka věnovala sledování dynamiky transkripce v průběhu meiózy s využitím různých metod, zejména smRNA FISH, která byla pro tento účel optimalizována. Výsledkem je metodický článek s podrobným protokolem optimalizované smRNA FISH v časopise *Methods*. Poslední část práce tvoří dosud nepublikovaná data mapující změny nukleo-cytoplazmatického poměru během oogeneze a časného embryonálního vývoje. Všechna prezentovaná data jsou velmi kvalitní, část z nich již obstála v recenzním řízení v impaktovaných časopisech. Vzhledem k tomu, že autorský tým ve výše zmiňovaných publikacích je tvořen pouze Mgr. Bolkovou a jejím školitelem, nemám pochyb o zásadním podílu Jitky Bolkové na jejich vzniku.

Z formálního hlediska je práce sepsána klasickou formou, obsahuje literární úvod, metodickou část, výsledky a diskuzi všech získaných dat. Literární úvod je podrobný, obsahuje dostatek informací k pochopení výsledkové části. Velmi podrobně je zpracována také metodická část, což je jistě žádoucí, neboť součástí práce byl také vývoj nových metodických postupů. Postupy jsou popsány tak, že případní pokračovatelé v práci na tématu ve školitelově laboratoři budou mít velmi usnadněnou práci. Výsledková část je srozumitelná, obrazová dokumentace je na vysoké úrovni. V poslední části autorka diskutuje získané výsledky. Zde bych ocenila trochu širěji pojatou diskuzi, například porovnání výsledků na modelu *C. elegans* s výsledky z jiných modelů nebo zamyšlení nad fyziologickými důsledky pozorovaných jevů. Velkou výtku mám k jazykové úrovni celé práce. Oceňuji snahu autorky o květnatý jazyk, volba některých výrazů ale příliš neodpovídá vědeckému textu. Frekvence gramatických a stylistických chyb přesahuje únosnou míru. Nad větou „Podobných výsledků ohledně mitózy dospěli také Strickfagen s kolegy pozorováním jader plochého tvaru linie RPE-1, buňky pigmentového epitetu sítnice označených RFP (červený fluorescenční protein), a fotoaktivovatelnou formou GFP“ češtinář úpí. Je to škoda, protože jinak je text celkem čtivý.

Otázky k diskuzi:

1) V práci byla popsána pravotočivá rotace chromatinu během zygotického dělení. V Diskuzi je zmíněna práce, která rotaci dává do souvislosti s utvářením pravolevé asymetrie v pozdějším vývoji. Dala by se tato hypotéza u *C. elegans* testovat? Jak?

2) V diakinetických oocytech je část chromozomů v blízkosti jaderné laminy, část v centru jádra. Je tato distribuce chromozomů náhodná nebo se v daných oblastech nacházejí vždy stejné chromozomy?

3) Během oogeneze je část buněk odstraněna apoptózou. Jedním z možných vysvětlení je, že tyto buňky vykonávají funkci nutritivních buněk a syntetizují mRNA pro zrání oocytů. Jaký vliv na zrání oocytů mají mutace blokující apoptózu zárodečných buněk? Mohly by tyto mutace ovlivnit nukleo-cytoplazmatický poměr? Mohla by hodnota nukleo-cytoplazmatického poměru v dané oblasti gonády hrát roli v rozhodování, která buňka se bude dále vyvíjet v oocyt a která podstoupí apoptózu?

4) Jednou z technických komplikací byla příprava YFP-LMN-1/GFP-PH dvojité značeného kmene, neboť transgeny jsou lokalizovány na stejném chromozomu, a je tak velmi obtížné připravit homozygotní linii. Jak by se tento problém dal vyřešit (při dostatku času a se znalostí nejnovějších metod transgeneze)?

**Závěr:** Předložená práce dle mého názoru splňuje požadavky na doktorskou dizertační práci, přináší nové a originální poznatky. Mgr. Jitka Bolková prokázala, že zvládá náročné experimentální postupy a pokročilé zobrazovací metody. Předložené publikace jsou z velké části tvořeny autorčinými výsledky a dokládají, že je schopna samostatně vědecky pracovat. Práci Mgr. Jitky Bolkové proto doporučuji k obhajobě jako podklad pro udělení titulu Ph.D. za jménem.

V Praze 31.5.2017

Mgr. Marie Macůrková, Ph.D.