



Školitelský posudek na diplomovou práci Bc. Šárky Kučerové

Název dipolové práce: Monitorování vývoje onemocnění Huntingtonovy choroby u transgenních miniprasat s N-terminální částí lidského mutovaného huntingtinu: biochemické a motorické změny u F0, F1 a F2 generace

Diplomová práce Bc. Šárky Kučerové se zabývá studiem fenotypu transgenního miniprasete, jednoho z mála velkých zvířecích modelů pro Huntingtonovu nemoc. Rozsáhlejší charakterizace průběhu nemoci u tohoto modelu je důležitá pro využití modelu v preklinickém testování terapeutických přístupů této zatím neléčitelné nemoci. Pro doručení, distribuci drogy a případnou účinnost je miniprase realistickým modelem pro lidské pacienty.

Diplomová práce Šárky Kučerové má 19 stránek teoretického úvodu, kde popisuje nemoc, příčinu a roli huntingtinu. Velká část se zabývá animálními modely této nemoci. Šárka používá správné citace a reference má zpracovány pomocí citačního softwaru. Metodiky jsou podrobně popsány. Hlavní výsledková část má dvě části. Biochemická část se zabývá expresí mutovaného huntingtinu a jeho toxických fragmentů v různých tkáních 24, 36 a 48 měsíčních zvířat. Šárka si osvojila základní metodiky jako Western blot, určení genotypu pomocí PCR, navržení primerů a real time PCR pro expresi mutovaného huntingtinu na úrovni mRNA. Dále filter retardation assay, pomocí které měla určit výskyt oligomerních struktur v kortexu těchto transgenních miniprasat. Hlavním výsledkem byl průkaz výskytu fragmentů především v mozku a ve varlatech oproti jiným tkáním ve všech věkových skupinách s mírným vzestupem během stárnutí. Tyto výsledky jsou součástí připravovaného manuskriptu. Druhá část se zabývá zavedením behaviorálních a motorických testů u nejstarší generace transgenních miniprasat. Spolu se spolupracovníky z laboratoře zavedla devět metod testující schopnost pohybu, překonávání překážek a strach, a ty pak testovala na F0, F1 a F2 generaci miniprasat. Tyto testy jsou důležité pro průkaz nástupu nemoci. Testy balanční kladiny, stability, tunelu a hračky ukázaly horší stabilitu, mobilitu a sníženou schopnost překonat strach u transgenních jedinců oproti kontrolám, i když díky malému počtu jedinců v tomto věku není výsledek signifikantní. Naznačuje však tendenci vývoje nemoci. Šárka také pomáhala naměřit data za použití GaitRite elektronického koberce a akcelerometrů na monitorování chůze. Vyhodnocení těchto dat však přesahuje rámec této diplomové práce, a proto nejsou zahrnuty. Šárka ukázala vlastní iniciativu

a nasazení. Sama zpracovala a statisticky vyhodnotila výsledky zmíněných testů. Práce obsahuje jasný souhrn a závěr. Po formální stránce práce splňuje veškeré požadavky.

Diplomovou práci Bc. Šárky Kučerové jednoznačně doporučuji k obhajobě.

Školitel:

Ing. Zdenka Ellederová, Ph.D

V Liběchově 7.9.2017