

Oponentský posudek na magisterskou práci

Bc. Alžběta Darášová, Zapojení proteinu vinkulinu do savčí gametogeneze.

Magisterská práce A. Darášové je zaměřena na sledování lokalizace a úlohy jaderného vinculinu (VCL) v gametogenezi myši. Konkrétně se jedná o lokalizaci VCL v jádře embryonálních profázních oocytů pomocí fluorescenční mikroskopie, dále pak o vytvoření kondicionálního knock-outu pro VCL.

Hodnocení výsledků z hlediska tvůrčího přínosu

Autorka prokázala, že VCL se lokalizuje do jádra embryonálních profázních oocytů, u VCL cKO je exprese VCL snížena. Autorka dále pozorovala sníženou fertilitu u VCL cKO myši.

Vlastní práce je metodicky bohatá a prokazuje, že autorka zvládla celou řadu metodik (od křížení myší až po PCR).

Formální kvalita předložené práce

Práce splňuje veškeré požadavky, kladené na magisterskou práci.

Hodnocení jednotlivých částí předkládaného spisu

Úvod a literární přehled

Autorka postupně popisuje buněčný cyklus, mitozu, meiózu, gametogenezi a současné znalosti o vinkulinu. Rozsah témat je široký. Autorka musela nastudovat velkou řadu literárních pramenů, zpracování takto rozsáhlé oblasti je na diplomovou práci naprosto dostatečné.

Cíle – jsou popsány jasně a přehledně.

Materiál a metody

Práce je metodicky bohatá, jednotlivé metody jsou podrobně popsány, v případě PCR jsou uvedeny sekvence použitých nukleotidů i schéma vlastní PCR.

Výsledky

Výsledky jsou uvedeny vlastní strukturou experimentů, což čtenáři pomáhá v orientaci. Velká pozornost je věnována ověřování genotypů WT a cKO myši. Lokalizace vinkulinu v jádře embryonálního profázního oocytu u WT a cKO myši je demonstrována pomocí mikroskopie a grafů, následuje pak sada experimentů na dospělých myších (sledování fertility).

Diskuze

Autorka porovnává získané výsledky s výsledky předcházejících autorů. Cenné je srovnání s výsledky, které byly získány v téže laboratoři (prof. P. Hozák) na lokalizaci VCL do jader myších spermatocytů. Z diskuze je zřejmé, že autorka umí na základě svých získaných výsledků formulovat hypotézy k dalšímu testování dané problematiky.

Díličí připomínky a otázky do diskuze

Obecně musím pochválit kvalitní češtinu celé práce, pouze na straně 45 (kap. 7.3.2.) bych vytkl drobný poklesek „...námy připravený...“, str. 37 „foceny“.

Str. 36, 6.2.1. Přítomnost vaginální zátky nemusí znamenat oplození. V další části práce to autorka ostatně sama konstatuje.

Str. 56 – „...popsaný efekt nižšího počtu oocytů po superovulaci by mohl být příčinou sníženého počtu mláďat i v našem případě“. Této části nerozumím. Předpokládám, že superovulaci jste v experimentech, kde následovalo oplození, popř. narození mláďat, nepoužívali.

Str. 44 – Autorka konstatuje „kolokalizace není stoprocentní, jelikož vinkulin se váže spíše do okolí chromozomu“. Stálo by asi za to, popřemýšlet o další metodice, jak prokázat kolokalizaci VCL s chromatinem, popř. s dalšími proteiny. Např. In situ proximity ligation assay (PLA) umožňuje detekci a vizualizaci proteinů, nacházejících se ve vzdálenosti méně než 40nm (Benesova et al., 2017). Domníváte se, že by tato metodika byla vhodná?

Str. 56 – Autorka uvádí v plánovaných experimentech *in vitro* fertilizaci a zrání oocytů *in vitro*. Domnívám se, že toto je velmi rozumný návrh, neboť by bylo možné sledovat, co se děje s VCL v dalších stádiích vývoje oocytu/embrya. Můžete nám přiblížit, která další stadia plánujete testovat?

Domnívám se, že předložená práce je výborným odrazovým můstkem pro další působení autorky. A. Darážová prokázala, že je schopna zvládnout celou řadu metodik, získat kvalitní data a použít je k dalšímu plánování experimentů.

RNDr. Jiří Kaňka, DrSc.

Laboratory of Developmental Biology
Institute of Animal Physiology and Genetics
Academy of Sciences of the Czech Republic
277 21 Libechov
Czech Republic
Tel 420 315 639551
Fax 420 315 639510
e-mail kanka@iapg.cas.cz

Liběchov, 5.9.2019