

# OPONENTSKÝ POSUDEK NA DIPLOMOVOU PRÁCI ŠTĚPÁNA RENA "STUDIUM ENZYMATICKÉ AKTIVITY FOLIKULÁRNÍ TEKUTINY ZRALÝCH A NEZRALÝCH FOLIKULŮ"

Štěpán Ren zpracoval v teoretickém úvodu podrobně samčí a samičí pohlavní orgány, vývoj a stavbu spermie a vajíčka, reprodukční proces –putování spermie samičím reprodukčním traktem až po oplodnění vajíčka spermií. V samostatné kapitole 1.7 popisuje typ, původ a složení folikulární tekutiny a v kapitole 1.8 významné enzymy samčího i samičího reprodukčního traktu.

Cíl práce byl jasně stanoven:

Biochemická charakterizace folikulární tekutiny ze zralých a nezralých folikulů prasnice a krávy se zaměřením na detekci a stanovení enzymatických aktivit. V závěru práce, ze souhrnu výsledků, jasně vyplývá, že cíle, které si autor vytkl byly splněny.

V diplomové práci zvládl izolaci folikulární tekutiny (FF) a různé biochemické, analytické a elektromigrační metody jako SDS-PAGE, 2D PAGE, RN-PAGE, zymografii a Western blot pro izolaci a charakterizaci proteinů.

Získal velké množství výsledků. Elektromigračními metodami zjistil mezidruhové rozdíly proteinového složení FF, ale rozdílné proteiny u stejného druhu ze zralých a nezralých folikulů nebyly zjištěny. Obdobně při charakterizaci FF detekcí glykoproteinů a sacharidových motivů pomocí lektinů zjistil mezidruhové rozdíly, ale ne rozdíly u stejného druhu. Studoval enzymatické aktivity u FF ze zralých a nezralých folikulů prasnice a krávy a to aktivitu proteolytickou, aktivitu hyaluronidasy a stanovil i specifickou aktivitu glykosidas.

Výsledky jsou prezentovány přehledně v 18 obrázcích.

Za hezké výsledky považují zymografické určování serinových proteas a metaloproteas v FF kravských a prasečích zralých a nezralých folikulech.

Za zdařilý výsledek považují potvrzení přítomnosti zvýšené aktivity fukosidasy v neutrálním pH u FF zralých folikulů krav a zvýšené aktivity manosidasy u FF zralých folikulů prasnic.

V diskusi jsou dosažené výsledky podrobně analyzovány a jsou z nich naznačeny závěry i možná hypotese, že glykosidasy přítomné ve FF by se mohly podílet na druhově specifickém uvolňování spermií z oviduktálního reservoáru .

Diplomová práce je kvalitní, přehledná a logicky seřazená.

K práci mám několik dotazů a připomínek:

Str. 39. Čím je způsobena při SDS-PAGE rozdílná migrace sérového albuminu v redukujících podmínkách oproti neredukujícím?

Str. 47. Obr. 13 V popisu pod obrázkem 13C je něco navíc?

Str. 12. Nezmiňujete se, že prostatický specifický antigen (PSA) je známý diagnostický marker pro stanovení rakoviny prostaty. Jak je to s kyselou prostatickou fosfatase (PAP), kterou uvádíte jako diagnostický marker?

V úvodu máte zařazenou kapitolu 1.6 Reprodukční proces, která není uvedena v obsahu diplomové práce.

V popisech jednotlivých obrázků elektromigračních metod by nikdy neměl chybět údaj o daném množství vzorku v  $\mu\text{g}$ .

Byla provedena základní charakterizace proteinů, glykoproteinů enzymatických aktivit FF zralých a nezralých folikulů u dvou živočišných druhů (prasnice, kráva). Chcete dále pokračovat v daném tematu, jak zaměříte další práci?

Moje dotazy a připomínky nesnižují výsledky, které získal Štěpán Ren, který pečlivě zpracoval a napsal kvalitní diplomovou práci. Hodnotím ji jako výbornou.

V Praze 18. 5. 2009

---

Doc. RNDr. Věra Jonáková, DrSc.