



CHARLES UNIVERSITY IN PRAGUE  
1st MEDICAL FACULTY  
INSTITUTE OF PATHOPHYSIOLOGY  
12853 PRAHA 2, U Nemocnice 5  
Head: Assoc. Prof. Martin Vokurka MD, PhD

### **Oponetský posudek na diplomovou práci Barbory Dudkové**

Školitelka: RNDr. K. Horthová PhD.

Obhajoba: 16-17.9.2013

Kandidátka si klade za cíl studovat posttranslační modifikace histonů, konkrétně acetylaci histonu H4 na lysinu 12 (H4K12Ac) ve spermiích myši a v ranných stádiích embrya. Jak známo, histony tvoří v pozdní spermatogenezi minoritní populaci jaderných proteinů, jelikož jsou v pozdní spermiogenezi nahrazeny protaminy. Je předpokládáno, že modifikace ‚zbytkových‘ histonových proteinů má vztah v reprogramování genové exprese v časném životě embrya. Míra zapojení paternálního a maternálního pronukleu v remodelaci chromatinové struktury v průběhu iniciace časné embryonální transkripce je předmětem studia včetně předkládané diplomové práce.

Formální stránka: popis je čitelný a srozumitelný, dle mého soudu vcelku výstižný. Jazyk je anglický, nemám problém mu většinou rozumět. Pořadí a organizace sekcí jsou dle mého soudu nepraktické, přestože zřejmě reflektuje interní doporučení. Například řazení: obecný úvod (1 strana), specifické cíle (1 strana), za nimiž následuje literární přehled (16 stran).. je nepraktické, jelikož by cíle měly být uvedeny za hypotézou na podkladě literárního přehledu. Podobně i část materiál a metody nenavazuje na cíle a tak celé dílo jen strukturou ztrácí kompaktnost. Další pořadí: výsledky-diskuse-závěry-citace je již bez problému. Obrázky jsou vysokého rozlišení, fotky jsou značně zdařilé, nicméně obsah legend spíše kopíruje výsledkovou část. Navíc se tam vyskytuje řada zkratk, jež nutí čtenáře věčně listovat. Spíše by mělo platit, že legenda za každých okolností objasňuje komplexitu obrázku.

Výsledky: pomocí nepřímé imunofluorescence dokumentují přítomnost H4K12Ac v paternálním pronukleu. Dále byla detekována povšechná metylace v oblasti paternálního pronukleu a následně známky demethylace (opět pomocí IF), zatímco maternální pronukleus po určitou dobu zůstal metylován. Autorka dává do souvislosti demethylaci a acetylaci H4K12 v oblasti paternálního pronukleu s aktivací transkripce v časně embryogenezi. Technické provedení výsledkové části, především IF, je dokonalé. Popis významnosti zjištěných rozdílů by měl být statisticky hodnocen.

Všechny tři závěry jsou podloženy výsledky. Zakončení závěrů (str 55) jsou do určité míry spekulativní. Pravděpodobně by stálo za to tyto části spíše umístit do výhledů práce či zahrnout je širěji v diskusi a raději je do závěrů nedávat. Např. že hyperacetylaci H4K12 paternálního pronukleu pravděpodobně usnadňuje transkripci paternální genové exprese, jež je zapotřebí pro časně kroky embryogeneze. Podobně i druhý závěr na konci, jež ukazuje na větší aktivitu paternální transkripce ve srovnání s maternální, aniž byla úroveň transkripce měřena. Nebo i třetí závěr na konci, o vlivu H4K12Ac na akumulaci transkripčních faktorů, jež nebyly ukázány.

Otázky pro obhajobu: dokumentujte svými či literárními daty zakončující věty ze zmíněných tří závěrů (str 55).

Hodnocení: autorka prokázala vysoké schopnosti v experimentální práci na úrovni zvládnutí náročné technologie. Autorka psala značně samostatně tuto práci v anglickém jazyce, což je jistě velmi dobrá příprava pro další vědeckou práci, jež je na jazykových schopnostech závislá.

**Vzhledem ke splnění podmínek pro diplomovou práci velmi doporučuji kladné posouzení.**

S pozdravem,

Doc. MUDr. Tomáš Stopka PhD.  
Ústav patologické fyziologie 1.LFUK

U nemocnice 5, 12853  
[tstopka@lf1.cuni.cz](mailto:tstopka@lf1.cuni.cz)  
224965970