

## Posudek na bakalářskou práci

- školitelský posudek  
 oponentský posudek

Jméno posuzovatele: Petr Svoboda

Datum: 7.9. 2008

Autor: **Jana Rybářová**

Název práce: **Metylace a přenos somatického jádra do enukleovaného oocyту u savců**

- Práce je literární rešerší ve smyslu zveřejněných požadavků (pravidel).  
 Práce obsahuje navíc i vlastní výsledky.

### Cíle práce (předmět rešerše, pracovní hypotéza...)

Cílem práce je shmutí poznatků týkajících se chování DNA metylace při klonování (respektive přenosu somatického jádra do enukleovaného oocyту).

### Struktura (členění) práce:

Práce je logicky strukturována. Po úvodu následuje charakteristika DNA metylace během časného embryonálního vývoje u pěti modelových savčích organismů, potom kratší kapitola zabývající pluripotencí a dvě delší kapitoly diskutující imprinting během klonování a faktory ovlivňující metylaci. Možná by bylo lepší zařadit sekci 3 již do úvodu, ale to je detail.

### Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány?

#### Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů?

Použitá literatura obsahuje přes třicet položek a pro bakalářskou práci se jedná o dostatečné množství. Hlubší pokrytí zvoleného tématu by vyžadovalo citaci řady dalších prací, ale to by bylo nad rámec bakalářské práce. Výběr citací proto považuji za celkem dostatečný a rozumě pokrývající zvolené téma. Citované literární zdroje jsou většinou citovány správně. Nicméně si autorka zaslouží kritiku za nepoužití citací na řadě míst, kam citace patří. Jde zejména o případy, kdy cituje fakta nebo původní objevy – zde jsou citace nutné. Reprezentativními případy jsou třeba absence citací u popisu cytoplazmatické DNMT1 v časných embryích, která je odbyta jedinou citací z roku 2007. V případě pluripotence by měl být citován některý z klíčových článků z posledních let rozkrývající transkripční kontrolu pluripotence.

### Pokud práce obsahuje (nadstandardně) i vlastní výsledky, jsou tyto výsledky adekvátním způsobem získány, zhodnoceny a diskutovány?

Netýká se této práce

### Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Formální úroveň práce je dobrá, ale její kvalita by mohla být ještě lepší. Postrádal jsem nějaké schéma časného vývoje se znázorněnými změnami metylace a klíčových vývojových událostí a schéma imprintované oblasti Igf2/H19.

Text by si zasloužil ještě jednu pečlivou revizi, mj. zaměřenou na upřesnění významu některých obrátů a vět. Několik vět dává smysl jen po přemýšlení nad jejich kontextem a samy o sobě jsou chybné. Například: *Nový embryonální genom, umožňující vznik všech buněčných typů je tedy kombinován ze dvou vysoce specializovaných rodičovských genomů.* Pomineme-li pohlaví, jsou genomy rodičů a potomků prakticky ekvivalentní a odlišnosti spočívají v alelách genů, nikoliv ve vysoké specializaci genomů. Autorka měla pravděpodobně na mysli specializaci ve smyslu diferenciální genové exprese v gametách a zygotě. Autorka by také měla pečlivě definovat termíny přeprogramování a plasticita a těchto definic se pak v textu držet. Přeprogramování genové exprese a epigenetické přeprogramování jsou sice související, ale mechanicky odlišné záležitosti. Zatímco měřítkem přeprogramování genové exprese jsou změny v hladinách genových produktů, měřítkem epigenetického přeprogramování jsou změny histonových modifikací a DNA metylace, které jsou přenášeny do dalších generací buněk. Termín „genome plasticity“ je význačný a používá se mj. velmi často v souvislosti s fylogenetickým vývojem.

I když problémy s převodem původně anglického textu to českého jazyka jsou velmi řídké, autorka by se měla vyvarovat výrazů jako: *toto místo se nachází upstream H19.*

Autorce do budoucna doporučuji nechat každý text několik dní uležet, potom se k němu vrátit,

pomalou a pečlivě jej přečíst a věnovat se výše zmíněným bodům.

### **Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

**Práci doporučuji k přijetí** neboť, přes všechny výhrady, podle mého názoru požadavky na bakalářskou práci bohatě splňuje. Jana Rybářová prokázala, že je schopna načíst, sepsat zvolenou problematiku a adekvátně ji diskutovat.

### **Otázky a připomínky oponenta:**

Za výrazný nedostatek textu považuji absenci popisu nulových fenotypů DNA metyltransferáz (a katalyticky inaktivní DNMT3L). Toto by mělo být součástí úvodu stejně tak jako vysvětlení rozdílů funkce DNA metylace v konstitutivním a fakultativním heterochromatinu. Postrádal jsem také hlubší diskusi ohledně vlivu samotných kultivačních podmínek – bylo například celkem dobře ukázáno, že imprinting je relativně nestabilní a může se poškodit při samotné kultivaci embryí nebo ES buněk. Také mi chyběla diskuse o vhodnosti využití DNA metylace jako markeru pro reprogramování somatických jader. A konečně, reprogramování somatických buněk do indukovaných pluripotentních buněk a kontrola pluripotence v ES buňkách jsou témata, která prodělala v posledních několika letech bouřlivý rozvoj, který v této bakalářské práci zanechal jen minimální stopu (úplně první dvě práce o reprogramování fibroblastů to indukovaných pluripotentních buněk nejsou citované vůbec).

Onen „specifický protein“ regulující materiální expresi Igf2/H19 lokusu je CTCF a měl by být jmenován.

V případě syndromu velkých potomků a defektů imprintingu existují molekulární mechanismy, které mohou do jisté míry vysvětlit fenotypy, ale nejsou vůbec zmíněny a autorka se zabývá pouze popisem změn exprese několika genů. Vyšší podíl popisnosti výsledků na úkor syntézy informací do nějakého modelu nebo mechanismu je u bakalářské práce ještě tolerovatelný, ale při hodnocení dalších prací v budoucnosti by mohl přinést problémy. V diskusi faktorů ovlivňujících DNA metylaci by měly být zmíněny také experimenty s 5-aza-cytidine, který je inhibítoem DNMT1 a lze jím indukovat hypometylací.

#### **Otázky:**

Co přesně inhibuje trichostatin A?

Je DNA metylace primární nebo sekundární událost při inhibici genové exprese? Můžete uvést nějaký příklad?

Které jiné faktory jsou kromě odstranění DNA metylace důležité pro aktivaci genů umlčených během diferenceiace?

Návrh hodnocení školitele nebo oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis školitele/opponenta:

