

“Cell signalling pathways controlling meiotic maturation of mammalian oocytes”

Disertační práce Mgr. Petra Šolce se zabývá jednou z intenzivně studovaných oblastí meiotického zrání savčích oocytů – pochopení úlohy regulačních kináz a fosfatáz v tomto procesu. V práci je pozornost věnována zejména fosfatázám CDC25A, CDC25B a kinázám PKB/AKT a Aurora A. Funkce těchto proteinů u somatických buněk při regulaci buněčného cyklu na úrovni aktivace cyklin-dependentní kinázy (CDK1) a tvorby mitotického vřetenka jsou celkem dobře charakterizovány. Naproti tomu mnohem méně se ví o distribuci a úloze těchto proteinů při zrání oocytů. V práci jsou využity metody molekulární biologie, biochemie, imunochemie a mikroskopické techniky, které jsou velmi dobře zvládnuty na školícím pracovišti.

Disertační práce v anglickém jazyce se skládá se z obecného úvodu, cílů práce a z diskuze k získaným výsledkům. Materiál a metody nejsou uvedeny, ale jsou popsány v příložených publikacích. Výsledky předkládané práce byly publikovány ve 4 impaktovaných časopisech a Mgr. Šolc je 1x prvním autorem. V úvodní části je uveden přehled jednotlivých stádií vývoje savčích oocytů spolu s odpovídajícími regulačními mechanismy. Diskuze k získaným výsledkům je logicky členěna. V přehledu literatury je uvedeno 101 citací. Podle mého názoru jsou nejdůležitější výsledky předložené práce následující:

1. Průkaz diferenciální distribuce fosfatáz CDC25A a CDC25B v průběhu zrání oocytů a klíčové úlohy CDC25A v tomto procesu. Důležitým nálezem je rovněž nutnost degradace CDC25A při přechodu z metafáze I do metafáze II. Tato studia ukázala, že chování CDC25A v průběhu meiozy a mitozy bude zřejmě odlišné.

2. Serin/threonin protein kináza Aurora A, která je lokalizována v acentriolárních organizačních centrech mikrotubulů (MTOCs), je nezbytná pro tvorbu funkčního meiotického vřetenka. Její aktivace není závislá na signálních drahách využívajících PI3K, PKB nebo CDK1.

3. Nález odlišné role serin/threonin protein kinázy PKB/Akt při zrání myších a prasečích oocytů. U myších oocytů je fosforylace na Thr 308 důležitá pro rozpad jaderné membrány (GVBD), u prasečích oocytů pro stavbu dělicího vřetenka v metafázi I.

Práce je sepsána pečlivě s minimem překlepů. Po formální stránce mám jen drobné poznámky. Je trochu překvapivé zařadit seznamu publikací a závěrů do kapitoly nazvané „Hlavní cíle a jejich spojení s publikovanými články“. Obvyklejší je uvedení závěrů po diskuzi k dosaženým výsledkům. Vhodnější by také bylo dát úplný seznam použitých zkratk na začátek disertace. V textu chybí odkaz

na Obr. 1. Pořadí autorů u publikace v *Reproduction* (str. 29) je odlišné od „proofs“ uvedených v příloze. Autoreferát v anglickém jazyce je neobvykle stručný zejména v oblasti materiálů a metod.

Protože publikace prošly náročným recenzním řízením, nemám konkrétní dotazy k publikovaným výsledkům, ale předkládám několik podnětů k obecné diskusi.

1. Protože to není z předložené práce zcela zřejmé, prosím o upřesnění konkrétního podílu autora u jednotlivých prací uvedených v kapitole 8.
2. V průběhu zrání oocytů mají fosfatázy CDC25A a CDC25B odlišnou distribuci. Jsou mechanismy jejich aktivace identické nebo odlišné?
3. Co je známo o interakčních partnerech Aurora A v acentriolárních MTOCs? Může Aurora A ovlivňovat distribuci gamma-tubulinu při vyzrávání MTOCs?
4. Při inhibici PKB dochází u prasečích oocytů k tvorbě aberantních dělicích vřetének. V Diskusi předpokládáte, že dochází ke zvýšené aktivaci GSK-3 v oblasti MTOC. Jakým mechanismem ovlivňuje GSK-3 uspořádání mikrotubulů v meiotickém vřeténku?

Závěr: Autor prokázal dobrý přehled odborné literatury, aplikoval při svém studiu spektrum molekulárně biologických, imunochemických a mikroskopických technik a získala důležité prioritní poznatky v oblasti regulačních signálů při vyzrávání savčích oocytů. Získané výsledky byly publikovány v renomovaných mezinárodních časopisech. Z uvedených důvodů proto doporučuji, aby po úspěšné obhajobě byla autorovi udělena vědecká hodnost PhD.

V Praze, 13. 10. 2009

doc. RNDr. Pavel Dráber, CSc.

oponent