

Mgr. Heleny Fulkové

Mikromanipulace savčích oocytů a embryí - biologické a epigenetické hledisko

Předložená disertační práce Mgr. Heleny Fulkové je vypracována na základě soustředěné experimentální práce, která vyústila v publikaci 13ti původních vědeckých prací. Práce je sepsána v angličtině a je uvedena velmi zdařilým literárním úvodem, který je zaměřen na tři důležité aspekty epigenetické dědičnosti, na metylaci molekuly DNA, na posttranslační modifikace histonů a na nejdůležitější experimentální model epigenetických studií - přenos jader. Představení celé problematiky je založeno na nejsoučasnejších literárních údajích a je psáno velmi kompaktní formou, která svědčí o tom, že autorka představila svůj experimentální obor v podobě několika souhrnných článků.

Protože rozsah experimentální práce, který je zařazen v práci, je skutečně úctyhodný, jsou publikace řazeny tak, aby vytvářely logické celky. První tři práce jsou zaměřeny na mitochondriální genom, na onemocnění způsobená změnami v mitochondriální DNA a hlavně pak na možnost mikromanipulačního zásahu, který by umožnil normální vývoj. Jak přenos zárodečného vajíčku, tak přenos prvojader do dárcovské cytoplazmy má nejen technické a cytologické obtíže, ale v případě humánní medicíny také svá etická omezení. I když savčí oocyty zahájí jaderné zrání v podmínkách in vitro spontánně, jaká interakce mezi jádrem, zárodečným vajíčkem, a cytoplazmou je nezbytná k znovuzahájení meiózy na molekulární úrovni? V blízkosti jaderné membrány je často lokalizována oblast oocytárního centrozomu (MTOC). Je možné, že mikromanipulační zásah kompromituje budoucí ustavení plnohodnotného dělicího vřetenka?


Velmi důležitou součástí disertace jsou práce věnované změnám metylace DNA jak po oplození, tak po intracytoplazmatické injekci spermie (ICSI). Srovnávací pohled na průběh demethylace samčího i samičího genomu v průběhu časně embryogeneze u myší a prasat upozornil na podstatné mezidruhové rozdíly. Tento fakt nepochybně určuje i potřebu odlišných kultivačních podmínek pro vývoj embryí v podmínkách in vitro. Ve vztahu k ICSI bych se rád zeptal autorky, která vývojová stadia v průběhu spermiogeneze by považovala za bezpečná při použití v asistované reprodukci?

Brilantní metodika přenosu jader u savců je velkou předností experimentálního přístupu disertace, protože umožňuje řešení jedinečných biologických situací. Soustavná studie metylace, respektive demethylace chromatinu somatických buněk a maternálního a paternálního genomu je toho dokladem. Předpokládá autorka, že již přišel čas, aby globální pohled na změny v genomu zárodečné nebo somatické buňky byl nahrazen experimentálním přístupem k jednotlivým genům nebo skupinám genů?

I když článek publikovaný v časopisu Science není zahrnut v disertaci, je evidentní, že představuje další logický krok na epigenetické cestě autorky. Jadérko oocyty po dokončení růstové fáze neobsahuje rDNA, ale je místem, kde je lokalizováno velké množství ribonukleových kyselin a proteinů. Bylo by možné, třeba na základě proteomových studií jadérka, odhadnout, která(é) komponenty jadérka jsou rozhodující pro ustavení jadérka (jadérek) po oplození?

V diskusi by bylo jistě žádoucí se blíže vyjádřit k mechanismu, který vede k umlčování transkripce u oocytů na konci růstové fáze. Pozorovali jste rozdíly mezi RNA polymerázou II a RNA polymerázou I ?

Předložená disertační práce je metodicky i publikačně naprosto jedinečná. Práci doporučuji jak k obhajobě, tak k získání titulu PhD.



Prof. MVDr. Jan Motlík, DrSc.