



## **Posudek na práci Milana Blahy: Dynamika exprese mRNA Sak, Polo kinázy 4, během růstu a zrání prasečího oocyty**

„*Ex ovo omnia*“, to jsou slova slavného anglického biologa Williama Harveye z knihy „*De Generatione Animalium*“, která vyšla v roce 1651. Význam těchto slov je však platný i v dnešní době a zvláště pak pro oocyty (vejce) prasat, na které se Milan Blaha ve své práci v rámci SOČ zaměřil. Prase je člověku fyziologicky velmi blízké, proto se o něm uvažuje jako o druhu, který by např. mohl být vhodným zdrojem orgánů pro xenotransplantace. Abychom však mohly náležitě výzkum v této oblasti rozvinout, potřebujeme značné množství embryí. Ta je možno získat od dárců (*in vivo*), to je ale ekonomicky nesmírně náročné. Druhou alternativou jsou *in vitro* postupy. Zde se z vaječníků samic prasete porážených na jatkách získávají oocyty, které se nechávají zrát v podmínkách *in vitro*, kde dosáhnou stejného stádia, v jakém se nacházejí po ovulaci (metafáze II). U těchto oocytů je možné provést oplození *in vitro*, vnášet do nich geny, použít jako zdroj cytoplasm, nechat vyvíjet do stádia blastocysty, atd. Je však nezbytné poznamenat, že i po mnohaletém výzkumu, je úroveň využití kultivovaných oocytů prasete velmi nízká. Hlavním problémem je, že kvalita kultivovaných oocytů ve většině případů ani zdaleka nedosahuje kvalitu oocytů produkovaných *in vivo*.

Oocyty sice dosáhnou stádia metafáze II, při oplození *in vitro* jsou však velmi často polyspermické. Po ICSI (intracytoplasmatická injekce spermie) je přibližně polovina z nich neschopna indukovat dekonenzaci hlavičky spermie a tvorbu samčího prvojádra. V těchto případech pochopitelně nemůžeme počítat s tím, že vznikne normální embryo. Příčiny nejsou známy a je evidentní, že jedině detailní studium může vést k dalšímu pokroku a tím většímu využití oocytů prasete.

To je i tématem práce Milana Blahy, který se zaměřil na studium aktivit Sak (Polo kinázy 4) v průběhu růstu a zrání oocytů prasete. Zrání oocyty je komplexní proces, který zahrnuje řadu biochemických dějů, o kterých zatím nemáme úplné znalosti. Jedná se tedy o náročné téma a je tak pozoruhodné, že si ho Milan Blaha vybral pro svou práci. K získání výsledků je nezbytné zvládnout řadu obtížných technik – izolace a selekce oocytů, jejich kultivace a hodnocení, izolace celkové RNA, RT PCR, sekvenace DNA Sak, transfekce plasmidem, atd. Na základě výše uvedených postupů se pak Milanu Blahovi podařilo vytvořit poměrně ucelený obraz o aktivitě Sak v průběhu růstu a zrání oocytů. Jedná se o originální poznatky, interpretovat je však ve vztahu k vývojové schopnosti je zatím nemožné.



Je však nezbytné si uvědomit, že zrání oocytů představuje komplex procesů a svými poznatky k jeho pochopení Milan Blaha určitě přispěl.

### **Celkové hodnocení**

Práce Milana Blahy je výborná a překračuje úroveň podobných prací jeho vrstevníků. Za ocenění stojí zvládnutí mnoha obtížných technik. To vedlo k získání řady nových poznatků. Chtěla bych věřit, že Milan Blaha bude ve svých aktivitách pokračovat. Nejlepším prostředím pak jistě budou laboratoře Prof. Motlíka, jak již z hlediska vybavení, tak i profesionálního vedení. Milan Blaha by však neměl zapomenout na to, že každá práce musí pokračovat k určitému cíli – tím by měl být vývoj a zlepšení kultivačních podmínek a mnoha dalších technologií, a ještě lépe narození mláďat. Jistě však zvládne postupně i další techniky, jako je IVF a ICSI. Měl by však mít i na paměti, že studium aktivit kináz je jen jedna část procesu zrání, a i když bude jejich aktivita normální, nemusí to znamenat, že např. exprese imprintovaných genů je odpovídající. Pozor také na terminologii, ta není vždy v pořádku. Milan Blaha má však budoucnost před sebou a určitě zvládne i další postupy.

Jeho současná práce je nadprůměrná a svědčí o jeho schopnostech.

Mgr. Helena Fulková

Ústav experimentální medicíny, Praha