



Posudek na disertační práci Mgr. Hany Štufkové (Kratochvílové) „ Molekulární podstata deficitu F_1F_0 -ATP syntázy a jeho dopad na energetický metabolismus buňky“

Předkládaná disertační práce byla vypracována na Klinice pediatrie a dědičných poruch metabolismu, 1. lékařské fakulty, Univerzity Karlovy v Praze pod vedením, Ing. Markéty Tesařové, Ph.D.. Konzultantem disertační práce byl prof. MUDr. Tomáš Honzík, Ph.D.. Téma práce se týká zkoumání různých mutací vedoucích k defektu ATP syntázy a jejich vlivu na jednotlivé komplexy oxidativní fosforylace a na energetický metabolismus u pacientů.

Disertační práce je psána v anglickém jazyce a je přehledně členěna klasickým způsobem. Teoretický úvod shrnuje obecné i současné poznatky o mitochondriích, oxidativním fosforylačním systému se zaměřením na jednotlivé komplexy a onemocnění způsobené mutací vedoucí k defektu funkce ATP syntázy. Práce měla stanoveny čtyři specifické cíle, které jsou jasně a přehledně definovány: a) charakteristika proteinu TMEM70, b) charakteristika vlivu specifické mutace TMEM70 na komplexy oxidativní fosforylace a mitochondriální ultrastrukturu, c) studovat vliv mutace MT-ATP6 na komplexy oxidativní fosforylace a energetický metabolismus a d) studium molekulárních a biochemických aspektů vybraných mitochondriálních onemocnění s nedostatkem komplexu V. Metody, výsledky a diskuze jsou založeny na celkem 7 publikacích, kde 5 je již publikováno v impaktovaných časopisech, a 2 práce jsou sepsány a připraveny k odeslání. Autorka práce je na dvou publikacích jako první autor a na třech publikacích jako spoluautor, na připravovaných manuskriptech bude jako první autor. Výsledková část je rozdělena na podkapitoly podle jednotlivých cílů, kde je připsán i podíl autorky na jednotlivých publikacích. Metodické rozpětí práce je velmi široké – jedná se o pokusy na buněčných liniích, tkáňových kulturách, izolace mitochondrií, elektroforéza, Western blotting a imunoblotty. Použité metody jsou vzhledem k cílům adekvátní. Samotný text výsledkové a diskuzní části je originální komentář autorky. Za nejzajímavější výsledky považuji, popsání lokalizace proteinu TMEM70 v mitochondriální membráně a objevení adaptačního/kompenzačního efektu zvláště ve fibroblastech při jeho mutaci genu, a dále pak popis deficitu komplexů systému OXPHOS v patientských tkání u dalších mutací genů MT-ATP6, PUS1 a MTTK.

Získané poznatky představují důležité nálezy základního výzkumu, ale jsou velmi cenné z klinického hlediska pro vývoj terapeutických a diagnostických postupů.

Kvalita dosažených výsledků byla prokázána už recenzním řízením při publikování v impaktovaných časopisech, přesto bych měla několik dotazů k diskuzi:

- 1) V literárním přehledu Vaší práce popisujete, že díky novým technologiím se podařilo detekovat interakci TMEM70 s podjednotkou c a že byl nedávno popsán

další asemblační faktor TMEM242, který se také účastní organizace podjednotky c. Může objev TMEM242 vysvětlit nalezený zbytek funkčního komplexu ATPázy při mutaci/deleci TMEM70? Je již od té doby známý mechanismus (příp. hypotéza), jak by mohl TMEM70 s TMEM242 regulovat ATP syntázu? Je známá nějaká mutace TMEM242 a pokud ano, jaký má vliv na funkci ATP syntázy?

- 2) Jak si vysvětlujete, že mutace genu TMEM70 patří k nečastějším mutacím vedoucím k defektu ATP syntázy na rozdíl od dalších mutací, které jsou vzácné, zvláště v nukleárních genech? Jedná se o specifitu TMEM70 nebo je to pouze, že je tento protein více zkoumán a proto je více záchyťů?
- 3) Mutace genu TMEM70 měla rozdílný vliv na hladiny podjednotek OXPHOS v jednotlivých tkáních i na strukturu mitochondrií v různých buňkách (Publikace č. 3). Rozdíly byly vidět i mezi jednotlivými pacienty v rámci jedné tkáně. Čím se dá vysvětlit nehomogenita projevu (dopadu) dané mutace?
- 4) Většina mutací ATP syntázy se projevuje laktátovou acidózou. Je to přímý odraz nefunkční ATP syntázy nebo je to sekundární jev? Dochází k hromadění i jiných metabolitů?
- 5) Některé mutace ATP syntázy se projevily až v časném dospívání nebo v dospělosti. Je nějaká hypotéza, proč se nedostatečná funkce ATP syntázy neprojevila po narození ale až v dospělosti?
- 6) Existuje možnost v budoucnu odhalení mutace ATP syntázy během těhotenství (screening) případně predikce dopadu této mutace na zdraví/vývoj jedince?

Předkládaná práce obsahuje významné originální výsledky, na jejichž získání měla Mgr. Hana Štufková podíl. Práce splňuje všechny požadavky kladené na disertační práci. Dle mého názoru kvalita autorka v disertační práci prokazuje předpoklady k samostatné vědecké práci. Proto předloženou disertační práci doporučuji přijmout k obhajobě pro udělení titulu Ph.D.

V Praze 12.1.2023



Ing. Petra Janovská
Odd. Biologie tukové tkáně
Fyziologický ústav AV ČR, v. v. i.
Vídeňská 1083, Praha 4