



KATEDRA BIOCHEMIE

Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta

Hlavova 2030

CZ-128 40 Praha 2

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Daniely FORNŮSKOVÉ „Biochemical and molecular studies of cytochrome c oxidase and ATP synthase deficiencies“

Disertační práce Mgr. Daniely Fornůskové řeší zajímavou problematiku, důležitou pro rozvoj péče o lidské zdraví. Práce významně přispívá k rozvoji několika vědních disciplin. Konkrétně především buněčné biologie, biochemie a molekulární biologie. Disertační práce se zabývá poruchami ve složkách respiračního řetězce a systému oxidační fosforylace na molekulární úrovni. Konkrétně řeší především problematiku IV. komplexu dýchacího řetězce, funkce podjednotek molekuly cytochrom c oxidasy na genové úrovni. Dále pak funkce dalšího mitochondriálního enzymu, Oxal translokasy v biosynthesy cytochrom c oxidasy. Pro studium bylo použito geneticky modifikovaných buněčných linií, připravených tak, aby poskytly informaci o funkci genů kódujících jednotlivé podjednotky studovaných proteinů. Vedle toho byly studovány mutace ve vybraných genech systému oxidační fosforylace v různých tkání pacientů s Leigh syndromem. Za zajímavý výsledek považují též zjištění, že jedna ze specifických mikrodelecí v genu ATP6 vede k omezení syntesy podjednotky a komplexu ATPasy a defektu biosynthesy cytochrom c oxidasy. Studium uvedené problematiky má nepřehlédnutelný význam jak teoretický tak i praktický. Takové studie jsou podstatné vzhledem k potenciálnímu využití získaných poznatků v diagnostice. Výsledky získané v předkládané disertační práci jasně prokazují, že kolegyně Fornůsková je zdatnou a vytrvalou experimentátorkou.

Význam výsledků získaných v průběhu vypracování disertační práce podtrhuje úspěšnost publikačních aktivit kolegyně Fornůskové. Výsledky uvedené v disertační práci byly publikovány v pěti původních vědeckých pracích (v letech 2004 – 2010), z toho většina v časopisech s vysokým impaktovým faktorem. Další práce, kde je Daniela Fornůsková spoluautorkou je k publikaci zaslána. Výsledky práce tedy prošly celou řadou velmi náročných recenzních řízení a není k nim téměř co dodat. Mgr. Daniela Fornůsková je navíc

první autorkou ve dvou publikovaných pracích, ilustrující její majoritní podíl na těchto pracích. To vše prokazuje, že kolegyně Fornůsková dosáhla velmi kvalitních výsledků, a že zvolené téma disertační práce, které řešila, je opravdu aktuální. Z práce též jednoznačně vyplývá, že kolegyně Fornůsková pracovala ve vědeckém týmu světově špičkové úrovně.

Jak již bylo uvedeno výše, z disertační práce je patrné, že autorka je velmi zdatnou experimentátorkou, která ovládá širokou paletu experimentálních metod užívaných ve špičkovém výzkumu. Objem experimentální práce Daniely Fornůskové je obdivuhodný. Vysoká metodická úroveň experimentální práce pak byla zárukou pro získání hodnotných výsledků, které významně rozvíjejí základní teoretické poznání. Výsledky disertační práce Daniely Fornůskové, dle mého názoru, plně odpovídají vytčeným cílům. Práce přináší původní vědecké výsledky, které byly, jak již bylo uvedeno, publikovány. Z práce je navíc zcela patrné, že autorka pracovala v badatelském týmu vysoké vědecké úrovně, což tvoří významný předpoklad i pro jeho další odborný růst.

Disertační práce Mgr. Fornůskové sestává z textu čítajícího 92 stran. Je jak po stránce formální tak i obsahové velmi pěkně vypravena. Je psána způsobem, který je kombinací klasického stylu psaní disertačních prací a stylu zkráceného. Obsahuje totiž velmi podrobnou a pěkně napsanou úvodní část práce, dále detailně popsanou metodiku a výsledky, které jsou však uvedeny jako komentář vložených publikovaných prací. U každé práce je pak jednoznačně uveden podíl autorky disertace na publikaci. Získané výsledky jsou v této části disertační práci adekvátně shrnuty a kvalitně interpretovány. Disertační práce je psána v angličtině, což ilustruje také její kvalitní jazykovou výbavu.. Byla pro mne poutavým čtením.

K disertační práci mám několik dotazů, které slouží především jako podklad pro následnou diskusi.:

- 1) V práci byly použity různé typy buněčných linií jako jsou linie odvozené od fibroblastů a buněk HEK-293. Mohla by autorka uvést důvody, proč byly v práci použity právě tyto buněčné linie? Jak je stabilní exprese proteinů, které byly v práci sledovány v buněčných liniích a jak jejich exprese v těchto buněčných liniích byla kontrolována?
- 2) Lze výsledky získané v buněčných liniích *in vitro* extrapolovat na situaci *in vivo*?
- 3) Ke sledování exprese jednotlivých složek mitochondriálního systému oxidační fosforylace bylo použita jak metoda analyzující expresi mRNA, tak i proteinů. Používala autorka při izolaci RNA, a při práci s ní, inhibitory ribonukleas? Jestli ano, které? Na jakém mechanismu jsou založeny inhibiční účinky inhibitorů těchto enzymů?

Závěr

Disertační práce Mgr. Daniely Fornůskové je kvalitní vědeckou prací. Dle mého názoru práce rozhodně splňuje požadavky kladené na disertační práce obdobného typu. Přináší původní vědecké výsledky, které již také byly publikovány. Práci plně doporučuji k přijetí k obhajobě. Doporučuji rovněž, aby byl na základě úspěšné obhajoby předložené práce Mgr. Daniele Fornůskové udělen, dle § 47 Zákona o vysokých školách č. 111/98 Sb., akademický titul doktor ve zkratce **Ph.D.**

V Praze, 8.12.2010


Prof. RNDr. Marie Stiborová, DrSc.

katedra biochemie, Přírodovědecká fakulta UK v Praze