



UNIVERZITA KOMENSKÉHO V BRATISLAVE

Prírodovedecká fakulta

Katedra biochémie

Mlynská dolina
842 15 Bratislava 4

Tel.: 02 / 602 96 539
Fax: 02 / 602 96 452
e-mail: kolarov@fns.uniba.sk
<http://www.fns.uniba.sk/~kbi>

Oponentský posudok na doktorandskú prácu Mgr. Hany Nuskovej

Predkladaná dizertačná práca si kladie za cieľ preštudovať niektoré aspekty zmien biogenézy, štruktúry a funkcie mitochondriálnej ATP syntetázy vyvolávané mutáciami v jadrovom ako aj v mitochondriálnom genóme.

Téma práce je vysoko aktuálna. ATP syntetáza je ten najsofistikovanejší, najkomplikovanejší a najviac študovaný proteínový stroj schopný premieňať energiu elektrochemického gradientu protónov na syntézu ATP a pochopenie vzťahu medzi jeho štruktúrou a funkciou bude mať významný dopad ako v základnom výskume, tak aj v mnohých biomedicínskych odvetviach. Enzymatická funkcia ATP syntetázového komplexu a jeho biogenéza, ktorá je závislá súčasne na jadrovom aj mitochondriálnom genóme, sú prísne regulované a tak ako aj predložená dizertačná práca ukazuje, poruchy v regulácii môžu viesť k vážnym patologickým prejavom. Napriek intenzívnemu štúdiu vzťahov medzi štruktúrou, funkciou a biogenézou ATP syntetázového komplexu, mechanizmy vedúce k patologickým prejavom v dôsledku genetických defektov nie sú známe, resp. získané výsledky sú nejednoznačné a v mnohých prípadoch kontroverzné. Z toho vyplýva aj aktuálnosť cieľov predloženej práce, v ktorej Mgr. Nusková a spolupracovníci sa snažia vysvetliť ako tri nezávislé mutácie, dve v jadrovom genóme (ATP5E a TMEM70) a jedna mitochondriálna MT-ATP6 mutácia ovplyvňujú štruktúru, funkciu a biogenézu ATPsyntetázového komplexu, ako aj jeho intermolekulárne interakcie s elektrón- a anión- transportnými komplexmi mitochondriálnej membrány.

Dizertačná práca sa formou aj obsahom približuje štandardu podobných prác vypracovaných v špičkových akademických inštitúciách vyspelých krajín. Spis obsahuje šesť publikovaných prác, literárny úvod o problematike štruktúry, funkcie a biogenézy ATP syntetázy, krátke súhrny šiestich publikovaných prác, a dva a pol stránkovú súhrnnú diskusiu. Tak ako je na tomto pracovisku zvykom, práce sú publikované v renomovaných vedeckých periodikách a z toho vyplýva, že prešli prísny recenzným konaním. Mgr. Nusková je prvou autorkou v jednej publikovanej práci, cieľom ktorej bolo zistiť intermolekulové interakcie ATP syntetázy s ďalšími komplexmi systému OXPHOS, a do akej miery uvedené interakcie a oligoméne štruktúry sú ovplyvnené uvedenými mutáciami.

Úvodná časť práce je prehľadne a inteligentne napísaná. Zhrňuje to, čo je najdôležitejšie pre definíciu cieľov projektu, a svedčí tiež aj o celkovom pochopení základných vlastností hlavných protagonistov OXPHOS systému. K tejto časti dizertačnej práce, nakoľko je 100% -ným autorským dielom, mám pár poznámok formálneho charakteru, ktoré by mohli byť užitočné v ďalšej vedeckej činnosti autorky. Vadí mi popisný charakter jednotlivých podkapitol v ktorých chýba kritický osobný pohľad vedca a to aj v prípade kontroverzných záverov týkajúcich sa funkčnej signifikancie a štruktúry superkomplexov. Ďalšia pripomienka sa týka nie vždy

vhodných referencií publikovaných prác v úvodnej časti dizertačnej práce a v autoreferate, a to aj v prípade objavov vedcov, ktoré boli ocenené Nobelovými cenami. Domnievam sa, že v prípade dizertačných prác sa vyžaduje, na rozdiel od diplomových prác, citovať pôvodné práce autorov a nie prehľadné články.

V ďalšom texte práce veľmi oceňujem, že autorka uvádza presný popis vlastnej účasti na uvedených prácach, a ňou požitých experimentálnych technik. Množstvo jej experimentov, a kvalita získaných výsledkov je pozoruhodná, a prevyšuje požiadavky, ktoré sú kladené na podobný typ práce. Rovnako vysoká je aj vedecká hodnota získaných výsledkov. Za veľmi dôležité považujem nové poznatky, ktoré sa týkajú špecifických interakcií medzi ATP syntetázou a komplexom II elektrón-transportného reťazca. V svetle predpokladanej tumor-supresorovej funkcie subjednotiek tohoto komplexu, je možné ďalej uvažovať o nových molekulárnych terčoch pre anti-nádorové liečiva.

Rovnakú pozornosť si zasluhujú aj nové výsledky týkajúce sa dopadu mutácie jadrových (*ATP5E*, *TMEM70*) génov a mitochondriálneho (*MT-ATP6*) génu, na biogénu a funkciu ATP syntetázového komplexu. Pozorované kompenzačné zmeny, ktoré čiastočne neutralizujú letálny efekt mutácie, dovoľujú uvažovať o nových regulačných mechanizmoch v mitochondriálnej fyziológii, ako aj o nových podporných liečivách, pre dedičné mitochondriálne ochorenia. Dôležité nové výsledky boli získané aj pri analýze dopadu mitochondriálnej mutácie na funkcie ATP syntetázového komplexu. Sú významným príspevkom k pochopeniu úlohy hydrofóbnej subjednotky α ATP syntetázového komplexu.

V časti „Diskusia“ autorka opätovne zhrňuje získané výsledky a konfrontuje ich s výsledkami iných autorov, ktoré boli získané na iných experimentálnych modeloch. Táto časť práce, ktorú autorka musela samostatne spracovať, a v ktorej mala dokumentovať svoju schopnosť orientovať sa v záplave vedeckých informácií, a pokúsiť sa prezentovať prípadne vlastné interpretácie molekulárných mechanizmov účinku jednotlivých mutácií, a následných adaptačných zmien, podľa môjho úsudku nebola naliežite využiteľná. Chýbajú mi tu prípadné pracovné hypotézy, možnosti ich testovania resp. kritický postoj ako k vlastným, tak aj k výsledkom z iných pracovísk, a všetko to čo, sa nemôže z rôznych dôvodov dostať do publikácii v časopisoch. K tomu budú smerovať aj moje otázky, ktoré položím priamo pri obhajobe.

Záverom rád konštatujem, že Mgr. Hana Nusková vypracovala veľmi kvalitnú doktorandskú dizertačnú prácu. Preukázala, že ovláda mnohé moderné laboratórne techniky pomocou ktorých, spolu s kolektívom v ktorom pracovala, získala celú radu nových dôležitých vedeckých výsledkov. O ich kvalite svedčia mnohé publikácie v špičkových odborných časopisoch. Vzhľadom na ich prínos pre rozvoj vedy, a vzhľadom na ich vysokú kvalitu odporúčam aby Mgr. Hane Nuskovej bol po úspešnej obhajobe dizertačnej práce udelený vedecko-akademický titul PhD.

V Bratislave, 6.1.2016



Jordan Kolarov
Emeritný profesor