

Oponentský posudek disertační práce Mgr. Jany Česnekové:

Functional characterization of LACE1 ATPase and mitochondrial AAA proteases YME1L and AFG3L2 in mitochondrial protein homeostasis.

Mgr. Jana Česneková vypracovala svou disertační práci pod vedením RNDr. Lukáše Stibůrka Ph.D. v Laboratoři pro studium mitochondriálních poruch na Klinice dětského a dorostového lékařství 1. LF UK.

Přestože uběhlo více než 150 let od doby, kdy byly mitochondrie poprvé pozorovány v eukaryotních buňkách, téměř 70 let od prvních popisů morfologie mitochondrií a 40 let od udělení Nobelovy ceny za chemiosmotickou teorii mitochondriální syntézy ATP, tyto organely stále zůstávají bohatým a vděčným objektem vědeckého bádání. To prokazuje i předkládaná disertační práce Mgr. Jany Česnekové.

V té se zaměřila na některé systémy, které se podílejí na kontrole kvality proteinů v mitochondriích a udržení jejich homeostáze. Její výsledky potvrzují to, co už je dávno obecně přijímáno, tedy, že mitochondrie nejsou „pouhé“ buněčné „elektrárny“ ale podílejí se i na celé řadě dalších buněčných dějů, například apoptóze. I pro tyto „elektrárny“ ovšem existují složité a efektivní systémy, které jejich pumpy, jejich elektronové a protonové vedení a jejich turbíny udržují a případně opravují. Disertační práce Mgr. Jany Česnekové k objasnění mechanismu jejich působení přispívá.

Předkládaná disertační práce svědčí o tom, že autorka získala celou řadu cenných poznatků vtělených do 3 publikací (dvě již publikované a jedna podaná), které tvoří integrální součást práce. Jedná se o publikace v mezinárodních časopisech s hezkým IF a u všech publikací je Mgr. Jana Česneková uvedena jako první autorka. Výsledky obsažené v připojených publikacích jsou však jistě výsledkem badatelského úsilí širšího týmu lidí, zajímalo by mě proto, jaký je podíl autorky na získaných datech. V každém případě, z disertační práce se zdá, že Mgr. Jana Česneková ovládla a použila široké spektrum laboratorních metod, od těch základních, přes moderní zobrazovací, až po sofistikované metody molekulární biologie.

Po formální stránce je disertační práce víceméně klasicky členěná. Teoretický úvod představuje ucelený souhrn zkoumané problematiky. Je přehledně strukturovaný a seznamuje čtenáře s posledními poznatky na poli mitochondriálních proteáz a jejich významu pro udržení homeostázy mitochondriálních proteinů. Je celkem rozsáhlý, 42 stran textu,

nazabředává však do triviálností a opakování učebnicových fakt. Jeho rozsah svědčí o výborné orientaci autorky v problematice a vynikajícím zvládnutí teoretických základů. Stejně tak o erudici autorky svědčí i seznam použité literatury, který se rozprostírá na 31 stranách. Také souhrny k oběma částem práce výstižně prezentují nejdůležitější získané výsledky a vhodně je dávají do vzájemných souvislostí.

Po formální stránce je práce velice pěkná. Je psána v anglickém jazyce, a pokud mohu soudit, na dobré jazykové úrovni. Narazil jsem pouze na několik nevýznamných překlepů (mitochondria apod.) a jeden významnější v názvu páté kapitoly. Zdejší Conclusions se opakuje i v obsahu a v autoreferátu, což nejspíš svědčí o možnostech pro úpravu textu ve Wordu. Obrázky a grafy jsou úpravné a názorné, i když někdy by si možná zasloužily větší rozměr. Mám na mysli zejména obrázky z fluorescenčních a elektronových mikroskopů. Chápu, že jsou nejspíš převzaté z publikací, kde se do dvou sloupců větší obrázky nevejdou, ale ve formátu disertační práce se autorka mohla trochu více rozmáchnout. Mám také připomínky k některým grafům. Na straně 71, u obrázku 4.7 mi scházel popis osy y. Po chvíli se sice zdá jasné, že se jedná o procenta kontroly, ale mělo by to být uvedeno. U obrázku 4. 12 na straně 82 nejsou srozumitelné zkratky označující jednotlivé sloupce. Asi jen ten, kdo pravidelně měří na kyslíkové elektrodě se dopídí toho, co znamená například Su-AmA. Možná jsem špatně hledal, ale vysvětlení jsem nenalezl ani v originální publikaci. Navíc odlišení jednotlivých sloupců stupni šedi mi nepřipadá šťastné. A ještě, na straně 61 jsem v kapitole 3. 2. 10. narazil na dva roztoky, které jsou oba označeny STE, každý má však jiné složení.

K práci mám několik dotazů. Vzhledem k šíři literárního přehledu nesouvisí všechny bezprostředně se studovanou problematikou.

1. Na straně 13 autorka uvádí, že v mitochondriích rozlišujeme čtyři různé kompartmenty, uvádí jich však pět, i když poslední dva jsou označeny shodně iv). Znamená to, že krystaliní prostor je dnes považován za samostatný kompartment?
2. Na straně 19 je krátce otevřena otázka maternální dědičnosti mtDNA. Poté co byly vyvráceny představy o tom, že bičík spermie s mitochondriemi do vajíčka nevstupuje, je přijímána představa o degradaci samčí mtDNA v oocytu. Co znamená, že tento proces začíná již v samčím reprodukčním traktu? Co ho iniciuje? Potvrdil to i někdo jiný než citovaný Sutovsky?

3. Na straně 46 v kapitole 1.2.3. (mimořádně „are only *poorly understood*“ v prvním řádku) autorka píše o amfipatickém alfa helixu, který tvoří cílovou sekvenci matrixových proteinů, které jsou kódovány jaderným genomem. V čem spočívá zmiňovaná nevýhoda této sekvence?
4. Je známo něco bližšího o struktuře komplexů, jejichž součástí je LACE1? Zkoušeli jste i jiné koncentrace detergentů?
5. Je něco známo o vztahu mezi fragmentací mitochondrií (tedy vnější i vnitřní membrána) a strukturou a dezintegrací mitochondriálních krist?

Přes uvedené připomínky, jsem přesvědčen o tom, že disertační práce Mgr. Jany Česnekové je prací nadprůměrnou a přináší celou řadu nových a významných zjištění, které jistě přispějí k hlubšímu pochopení procesu kontroly kvality mitochondriálních proteinů a tím i tedy funkce mitochondrií a potažmo celého organismu. Tyto výsledky mohou mít v konečném důsledku samozřejmě i významný klinický dopad.

Podle mého názoru Mgr. Jana Česneková ve své disertační práci prokázala, že dokáže plánovat, provádět a vyhodnocovat vědecké experimenty a je tedy schopna samostatné vědecké práce. Doporučuji proto, aby jí na základě této disertační práce byla udělena vědecká hodnost PhD.

V Praze, dne 19. 1. 2019

Doc. RNDr. Martin Kalous, CSc.