

Posudek školitele na diplomovou práci „Biogeneze, struktura a fyziologický význam mitochondriální ATP syntázy“, kterou vypracoval Bc. Jan Eliáš:

Diplomová práce, kterou Bc. Jan Eliáš vypracoval na Oddělení bioenergetiky FgÚ AV ČR představuje samostatný projekt v rámci jednoho z hlavních výzkumných témat oddělení, tedy biogeneze a patofyziologie mitochondriální ATP syntázy. Hlavním úkolem studenta bylo připravit buněčný model deficiencie podjednotky beta mitochondriální F_0F_1 ATP syntázy a tento dále charakterizovat. Základní myšlenkou projektu bylo, že knockout katalytické podjednotky zcela znemožní biochemickou funkci enzymu a zároveň v rámci biogenezy enzymového komplexu dojde k narušení všech kroků vyžadujících přítomnost F_1 subkomplexu. Takový model může odhalit dosud nepopsané assembly intermediáty, stejně tak jako napomoci při testování hypotézy, zda ATP syntáza vedle své primární úlohy v produkci ATP může rovněž vystupovat jako strukturní komponenta póru přechodné propustnosti (mPTP).

Lze konstatovat, že předpokládané cíle se podařilo naplnit a v diplomové práci je detailně popsat. Model knockoutu v HEK293 buňkách je viabilní, byť postrádá ATP syntázu. Jediným jasně dokumentovaným assembly intermediátem byl oligomer podjednotek c, který byl dále v rámci diplomového projektu studován a ukázalo se, že příčinou jeho pozorované akumulace je jeho zvýšená stabilita u beta KO buněk. Beta KO buňky nejen, že byly schopny indukovat otevření mPTP, ale docházelo k němu dříve než v kontrolních HEK293 buňkách. To vylučuje požadavek na přítomnost sestavené ATP syntázy pro funkci mPTP póru a naopak podporuje hypotézu o c kruhu jako strukturní komponentě mPTP. Vedle výchozích premis se podařilo u beta KO buněk prokázat sekundární snížení komplexů mitochondriálního respiračního řetězce, které je v diplomové práci rovněž dokumentováno.

Jan Eliáš začal na tématu pracovat již v rámci bakalářského studia, kdy rychle naskočil do rozjetého vlaku studia biogeneze ATP syntázy a vlastnoručně brzy připravil buněčný beta KO model. Tím pádem i přes omezení související s pandemií Covid-19 dokázal v průběhu své práce v laboratoři získat množství výsledků, které daly vzniknout ucelené práci. V tomto ohledu je třeba zmínit, že například část jeho práce, věnovaná hledání assembly faktorů periferního stonku, nakonec ani nebyla do finální verze práce zahrnuta v zájmu jejího udržení v přijatelně kompaktní podobě. S výjimkou výsledků, které byly získány v rámci spoluprací nebo servisů (elektronová mikroskopie, vlastní zpracování proteomických MS vzorků, Sangerovo sekvenování) se ve všech případech jedná o vlastní výsledky studenta. Data získaná v rámci spolupráce jsou pak v diplomové práci jasně vyznačena. I v těchto případech ale vždy Bc. Jan Eliáš připravoval buněčné vzorky pro měření a následně vyhodnocoval získaná data.

Model beta KO buněk našel využití v řadě asociovaných projektů v rámci laboratoře. Bc. Jan Eliáš je tak spoluautorem publikované studie (Kovalčíkova J. et al., FASEB J. 2019 Dec;33(12):14103-14117, doi: 10.1096/fj.201900685RR), stejně jako několika dalších připravovaných, kde je tento buněčný model používán.

Svou prací Bc. Jan Eliáš významně přispěl k objasnění biogeneze ATP syntázy stejně jako její úlohy ve fenoménu mPTP. Jeho diplomovou práci doporučuji k obhajobě a na jejím základě k udělení magisterského titulu.

V Praze 13. 9. 2022



RNDr. Tomáš Mráček, PhD