



Posudek disertační práce

Název práce: *Characterization of mitochondrial respiratory chain defects using DNA microarrays*

Autor práce: RNDr. Alena Čížková

Disertační práce RNDr. Aleny Čížkové je předložena ve formě komentovaného souboru 4 prací publikovaných ve vysoce renomovaných zahraničních časopisech (IF = 30,2; 3,9; 4,3; 12,6), u dvou z těchto prací je Dr. Čížková prvním autorem. Téma práce je vysoce aktuální a je zaměřeno na studium vrozených poruch respiračního řetězce, které představují širokou skupinu vzácných, nicméně velmi závažných onemocnění. Účinná terapie vyžaduje pochopení molekulární podstaty těchto onemocnění a je výzvou k použití moderních metod molekulární genetiky a genomiky. Autorka zvolila k charakterizaci vybraných chorob metodu profilování genové exprese pomocí DNA čipů. Zavedení a optimalizace analýzy genové exprese, kterou následně autorka aplikovala při charakterizaci různých patologických stavů, byla hlavním cílem její disertační práce.

V první části práce Dr. Čížková zaměřila na konstrukci, validaci a testování oligonukleotidových čipů pro profilování genové exprese metabolických onemocnění s akcentem na defekty respiračního řetězce. V další části pokusů byla za použití této metody provedena analýza genové exprese linie fibroblastů získaných z geneticky heterogenní skupiny 13 pacientů s defektní mitochondriální ATP syntázou a výsledky byly porovnány s kontrolní skupinou 9 pacientů. Významné výsledky poskytla další studie zaměřená na analýzu genové exprese, DNA sekvenování a celogenomového mapování homozygoty u osmi pacientů s defektní ATP syntázou provázenou neonatální encefalopatií a kardiomyopatií. Srovnání výsledků s nálezy u zdravých jedinců prokázalo roli jediného genu (TMEM70), který byl již dříve identifikován jako významný kandidátní lokus na chromosomu 8. Dalším záměrem autorky bylo přispět k objasnění mechanismu poklesu oxidativní fosforylace u nádorových buněk linie CCRC. Toto nádorové onemocnění je způsobeno vrozenou mutací tumor supresorového genu VHL (von Hippel-Lindau faktor), který kóduje protein odpovědný za down-regulaci hypoxií indukovatelného faktoru 1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ). Vzhledem k tomu, že nebyla nalezena změna v genové expresi, a to ani v podjednotkách a asemblačních faktorech

oxidativní fosforylace, ani v promitochondriálních regulačních genech, lze předpokládat, že pokles obsahu proteinů dýchacího řetězce je pravděpodobně důsledek poruchy posttranskripčních regulací. Poslední část práce věnovala autorka přípravě čipu pro identifikaci molekulární podstaty mukopolysacharidózy typu IIIC. Z výše uvedeného výčtu je zřejmé, že Dr. Čížková odvedla obrovský kus práce s významnými prioritními výsledky.

V literárním přehledu (40 stran) autorka shrnuje dosavadní poznatky o struktuře, funkci, biogenezi a genetice mitochondrií. Dále se věnuje problematice mitochondriálních onemocnění a možnosti laboratorní diagnostiky defektů oxidativní fosforylace. Zevrubně popisuje metody profilování genové exprese pomocí čipů. Literární přehled je srozumitelný, po formální i odborné stránce je velmi dobře zpracován, je dokumentován 184 relevantními citacemi.

K autorce mám následující dotazy:

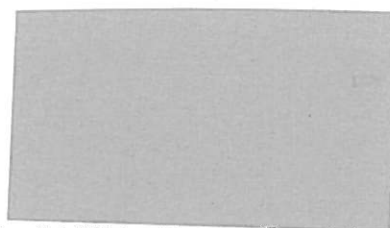
1. Zaujala mě otázka možnosti klinického využití objevu mutace genu TMEM70. Vyskytuje se tato mutace pouze v romské populaci, jaká je frekvence výskytu této mutace v České republice popř. v zahraničí?
2. Jaké jsou výhody popř. nevýhody zkonstruovaného mitočipu (h-MitoArray) ve srovnání s komerčními čipy? Jak vidí autorka perspektivy využití tohoto čipu?
3. Přílohy k publikaci v BMC Genomics obsahují celkový seznam genů a počty genů jednotlivých funkčních rodin. Zajímalo by mě, zda je k dispozici také tabulka funkčních anotací jednotlivých genů, např. které geny souvisejí s apoptózou jsou na mitočipu?

Závěr:

Práce řeší závažné téma, které má nejen teoretickou, ale i praktickou důležitost. Zaměření práce, výběr metod i interpretace výsledků jsou na vysoké odborné úrovni. Práce přináší řadu prioritních výsledků, všechny byly publikovány a prošly přísným oponentním řízením ve vysoce renomovaných mezinárodních odborných časopisech.

Závěrem konstatuji, že RNDr. Alena Čížková jednoznačně prokázala, že si osvojila schopnost samostatné vědecké práce a její spis převyšuje požadavky kladené na disertační práci, a proto komisi d o p o r u č u j i, aby práce byla předložena k obhajobě a na základě úspěšné obhajoby byl uchazečce udělen titul Ph.D.

V Hradci Králové dne 21. listopadu 2009



Prof. MUDr. Zuzana Červinková, CSc.  
Ústav fyziologie LFUK  
Šimkova 870  
500 38 Hradec Králové