

Předložená diplomová práce Bc. Andrey Mančíkové s názvem „Funkční studie alelických variant urátových transportérů SLC2A9 na modelu oocytů *Xenopus laevis*“ popisuje přehledně a detailně technické aspekty exprese a funkční charakterizace jednotlivých sestřihových i alelických variant lidského genu pro transportér urátového aniontu v experimentálním modelu žabího oocytu.

Hodnocení výsledků z hlediska tvůrčího přínosu:

Práce je kvalitní, propracovaná, obsáhlá co se týče osvojených metodik, se získaným uceleným množstvím výsledků. Hlavním výsledkem je zjištění sníženého transportu urátového aniontu u variant izoform kratší formy transportéru GLUT9S s variantami V169M, D281H a P350L lokalizovaných na apikální membráně ledvin. Naopak zvýšený transport byl zjištěn pro varianty R294H a P350L v delších izofotách proteinu GLUT9L z balolaterální membrány. Výsledky práce umožňují korelaci, kterou bude možná využít v klinickém prostředí, neboť práce ukázala, že jednotlivým nositelům alelických variant je možné uvažovat o vlivu změn funkce GLUT9 na hodnoty urikémie v krvi, případně tzv. clearance urátu v moči a prokazovat korelaci mezi alelickými variantami genu SLC2A9 a zjištěnými biochemickými markery.

Formální kvalita předložené diplomové práce:

Poměrně nevýznamnou slabinou práce jsou drobné formální nedostatky typu překlepů nebo různého formátování jednotlivých stránek.

Hodnocení částí předložené diplomové práce:

Práce začíná podrobnou literární rešerší, která přehledným způsobem seznamuje čtenáře se studovanou tematikou a jejím významem pro kliniku a farmakologii. Následuje metodická část, která má formu laboratorního protokolu, či podrobného návodu k práci, takže bude jistě využitelná pro všechny, kteří budou chtít na daném tématu pokračovat. Ve výsledkové části je potom popsán postup konstrukce cDNA pro jednotlivé varianty genu SLC2A9, jejich *in vitro* exprese a výsledky transportních studií na žabích oocytech. Diskuze je poměrně rozsáhlá a rozdělená do několika částí: Autorka v ní rozebírá především klíčové technické detaily celého projektu, které musela optimalizovat, a porovnává je se zkušenostmi jiných autorů. Jedna kapitola je věnována interpretaci výsledků funkčních studií jednotlivých variant genu SLC2A9 v souvislosti s fyzikálním charakterem příslušné aminokyselinové záměny. Práce končí stručným závěrem a seznamem literatury.

Celkové hodnocení předložené diplomové práce:

Celkově se tato práce, především část 4 až 6.4, vyznačuje značnou detailností a může sloužit jako laboratorní manuál podrobně vysvětlující všechny úkoly a nabízející řešení případných technických problémů. Rozsah práce, který musela studentka zvládnout, je značný a ukazuje na precizní osvojení

natolik odlišných technik, jako je *in vitro* mutagenese a izolace žabích oocytů. Množství výsledků funkčních studií považují za dostatečné, neboť je pochopitelné, že takto složitý projekt z oblasti molekulární biologie vyžaduje poměrně dlouhou přípravu a rozsáhlou optimalizaci metodik.

Shrnutí hodnocení práce:

Celkově tuto práci považují za mimořádně kvalitní, doporučují ji k obhajobě a navrhuji hodnocení „výborně.“

Dílejší připomínky k práci a doplňující otázky do diskuse:

Terminologicky vhodnější, především v Abstraktu, by bylo nahradit termín přenos, tedy základní popis funkce urátového transportéru, pojmem transport, přestože v anglickém podání transfer a transport mají bližší význam.

Otázky do diskuse:

- 1) Je možné měnit složení média, ve kterém byly prováděny funkční studie tak, aby simulovalo podmínky na bazolaterální, respektive apikální membráně buněk proximálních tubulů?
- 2) Korelují popsané změny transportní aktivity u jednotlivých polymorfismů SLC2A9 s hodnotami urikémie u pacientů nesoucích tyto varianty?