

Posudek školitele k obhajobě doktorské disertační práce Mgr. Venduly Karbanové.

Mgr. Vendula Karbanová roz. Havlíčková absolvovala postgraduální studium v oboru Patobiochemie ve Fyziologickém ústavu Akademie věd České republiky v Oddělení bioenergetiky, od r. 2007 do r. 2012.

Program jejího doktorandského studia byl zaměřen na problematiku dědičných poruch mitochondriálního energetického metabolismu s cílem charakterizovat molekulární mechanismy a metabolické projevy u mitochondriálních onemocnění, která jsou způsobena selektivními poruchami mitochondriální ATP syntázy na základě mutací v jaderných genech, ovlivňujících biosyntézu enzymu.

Mgr. Karbanová se specificky věnovala studiu biogeneze, struktury a funkce ATP syntázy v buněčných kulturách fibroblastů pacientů s deplecí ATP syntázy. Během postgraduálního studia si osvojila široké spektrum moderních biochemických a molekulárně-biologických metod od buněčných kultivací, izolací mitochondriálních organel, proteinových analýz pomocí řady imunoelforetických metod, oxygrafických analýz respiračního řetězce, QT-RT PCR analýz mtDNA a ncDNA, přes přípravu plasmidů a transfekce buněk až po knock-down vybraných genů pomocí RNAi a moderní proteomické metody (stáž na Univerzitě ve Frankfurtu).

Experimentální program Mgr. Karbanové se uskutečnil v rámci dlouhodobého projektu spolupráce mezi Oddělením bioenergetiky FGÚ AV ČR, Klinikou dětského a dorostového lékařství a Ústavem dědičných poruch metabolismu I.LF UK a VFN. Přinesl řadu významných výsledků které vedly k odhalení a charakterizaci nových genetických determinant dysfunkce ATP syntázy – mutací dvou jaderných genů *TMEM70* a *ATP5E*. *TMEM70* protein představuje nový biogenetický faktor savčí ATP syntázy a *TMEM70* mutace se ukázaly jako nejčastější příčina závažné neonatální encefalokardiomyopatie na podkladě defektu ATP syntázy. Práce disertantky umožnila potvrzení dysfunkce *TMEM70* genu komplementací wt genem ve fibroblastech pacientů, charakterizaci *TMEM70* proteinu a nález kompenzačně-adaptačních změn v respiračním řetězci vyvolaných mutací *TMEM70* genu. Tyto studie jsou obsaženy ve 3 publikacích. Spolupráce s Dětskou klinikou Paracelsus univerzity v Salzburku vedla k nálezu mutace v epsilon podjednotce ATP syntázy, kódované genem *ATP5E* a je prvním případem mutace jaderně kódované podjednotky enzymu. Charakterizace patogenního mechanismu a model downregulace podjednotky epsilon pomocí RNAi genu *ATP5E* představují druhou část výsledků disertace, které jsou obsaženy ve 2 publikacích.

Mgr. Karbanové je metodicky erudovaným vědeckým pracovníkem s aktivním přístupem ke studované problematice. Svoji prací významně přispěla k úspěšnému řešení několik grantových projektů (IGA MZd ČR, MŠMT ČR, GAČR, UK) řešených ve Fyziologickém ústavu AVČR a na 1. Lékařské fakultě UK i projektu bilaterální zahraniční spolupráce (Rakousko) a multilaterálního projektu 6RP EUMITOCOMBAT. O kvalitě výsledků jejího doktorandského studia nejlépe vypovídá celkem 6 publikací v renomovaných zahraničních časopisech (Nature Genetics, Human Molecular Genetics, Biochim. Biophys. Acta (3x), Mitochondrion).

V Praze, 28.11.2012

MUDr. Josef Houštek, DrSc.