

**Oponentský posudek bakalářské práce Nikolý Kovářové
„Deficience enzymu cytochrom c oxidasy zkoumaná na modelu myši s knockoutem genu SURF1
pomocí pokročilých elektroforetických metod”.**

Bakalářská práce Nikolý Kovářové byla vypracována na oddělení bioenergetiky FGÚ AV ČR pod vedením Doc. Karla Bezoušky a MUDr. Josefa Houšťka. Předložená práce je zaměřena na použití osvědčených imunoelektroforetických metod při řešení problematiky z oblasti mitochondriálního energetického metabolismu. Jako experimentální model byla použita myš s knock-outem genu *SURF1*, který hraje klíčovou, avšak doposud neobjasněnou, roli v biogenezi terminálního enzymového komplexu mitochondriálního dýchacího řetězce, cytochrom *c* oxidasy. Cílem práce bylo charakterizovat fenotyp *surf1* knock-out myši na proteinové úrovni, s ohledem na assemblaci holoenzymu cytochrom *c* oxidázy, a na podíl tohoto proteinového komplexu při tvorbě respiračních superkomplexů v jaterních mitochondriích. Získané výsledky měly být následně korelovány s údaji získanými studiem autoptických či bioptických vzorků od pacientů trpících Leigh syndromem v důsledku loss-of-function mutací v *SURF1* genu.

Formální uspořádání bakalářské práce sleduje klasické členění. Literární úvod je napsán velmi přehledně a seznamuje čtenáře s aspekty mitochondriálního energetického metabolismu a následně přechází k velice podrobnému výkladu podstaty použitých experimentálních metod. Nikola Kovářová tak prokazuje, že pronikla do problematiky a je schopná získané znalosti prezentovat. Metodická část podrobně popisuje použité techniky a dává tak možnost k provedení vlastních experimentů. Výsledková část prezentuje získaná data, která jsou poté rozvedena a uvedena do souvislostí v diskusi a závěru.

Práce je provedena velmi kvalitně a svědčí o velice pečlivém přístupu kandidátky. V předkládané práci jsem narazil jen na dvě drobnosti, které bych rád okomentoval:

Na stránce č. 4 teoretické části je uvedeno, že komplexy o stechiometriích I_1III_2 a $I_1III_2IV_2$ (mol. hm. 1.5 a 1.7 MDa) představují majoritní superkomplexy pozorovatelné po extrakci digitoninem. Majoritní superkomplex mitochondrií hovězího srdce o přibližné mol. hmotnosti 1.7 MDa, který má velmi pravděpodobně autorka na mysli, však ve skutečnosti vykazuje stechiometrii $I_1III_2IV_1$. Obsahuje tedy pouze monomerní, a ne dimerní komplex IV.

Na stránce č. 7 sedm v teoretické části je uvedeno, že defekty COX mohou být mimo jiné způsobeny mutacemi v strukturních podjednotkách komplexu. Zde by bylo možná vhodné uvést, že patogenní mutace byly do této doby nalezeny pouze v genech pro mitochondriálně kódované podjednotky COX.

Z výše uvedeného je zřejmé, že Nikola Kovářová si v průběhu bakalářské práce osvojila řadu experimentálních technik a získala unikátní výsledky, které přispějí k objasnění etiopatogeneze *Surf1* deficience a poznání samotné funkce *Surf1* proteinu.

Závěrem mohu s potěšením konstatovat, že předkládaná bakalářská práce naprosto splňuje veškerá kritéria a **doporučuji** ji k obhajobě.

V Praze dne 15.6.2006

Mgr. Lukáš Stibůrek

