

Oponentský posudek na magisterskou práci

Kristýna Čunátová (2018) Úloha tkáňově specifických izoform podjednotky 4 v sestavování a funkci cytochrom c oxidázy

---

Magisterská práce Kristýny Čunátové je zaměřena na studium dopadu buněčného knock-outu izoform podjednotky 4 cytochrom c oxidázy na sestavování a funkci tohoto multimerního enzymového komplexu mitochondriálního dýchacího řetězce. Práce dokumentuje tvorbu CRISPR knock-outů izoform Cox4i1 a Cox4i2 na základě buněčné linie HEK293. Dále tvorbu dvojitého knock-outu těchto izoform, a následně pak především charakterizaci strukturního a funkčního dopadu těchto změn na samotnou cytochrom c oxidázu, mitochondriální energetický metabolismus, mitochondriální translaci, transkripci, množství mitochondriální DNA a množství a funkci ostatních komplexů systému OXPHOS. Práce je metodicky i svým rozsahem velmi bohatě zpracována a prezentuje výsledky vynikající metodické úrovně. Teoretický úvod je vypracován na základě značného množství literatury (více než 170 citací). Výsledková sekce obsahuje 19 obrázkových a tabulkových panelů vysoké grafické kvality. Diskuse svědčí o tom, že autorka má velice dobrý přehled v dané tematice a je schopna na základě svých nálezů formulovat hypotézy pro další testování. Formální kvalita předloženého anglického textu je na velmi vysoké úrovni, bez gramatických chyb a formulačních problémů.

Dle názoru oponenta Kristýna Čunátová prokázala, že je schopna experimentálně pracovat na velmi vysoké úrovni, získat tak cenné výsledky, a ty následně diskutovat. Předloženou práci lze tudíž hodnotit jako vynikající.

Dotazy do diskuse:

1. Jedním z velmi zajímavých výsledků této práce je negativní dopad COX4i1 knock-outu na míru mitochondriální proteosyntézy, konkrétně pak snížený „pulse“ signál v „pulse-chase“ experimentu a snížené množství mitochondriálních ribosomálních proteinů. Jaký mechanismus by podle vás mohl spojovat izolovaný COX defekt a generalizované narušení mitochondriální translace/translační mašinerie? Nelze onen snížený „pulse“ signál vysvětlit například pozorovaným snížením množství mtDNA v Cox4i1 KO buňkách?

2. Z uvedených western blotů vyplývá, že za absence COX4i1 nedochází k hromadění jaderně kódovaných podjednotek cytochrom c oxidázy. Jaký mechanismus k tomu podle vás přispívá nejvyšší měrou; jejich intramitochondriální proteolýza mitochondriálními proteázami, proteolýza cytoplasmatickým proteasomem nebo např. negativní zpětnovazebná regulace jejich exprese na úrovni transkripce/translace?

---

28.5.2018

RNDr. Lukáš Stibůrek, Ph.D.