

*Sabiny Suldovské***Studium deficitu lidské F_1F_0 -ATP syntázy**

Na úvod bych chtěla konstatovat, že předložená diplomová práce je psána srozumitelně, s minimem překlepů a formálních nedostatků. *Občas se vyskytne formulační nesrovnalost, která byla zřejmě způsobena při závěrečné editaci textu – např. na str. 17, kde jsou dvě věty (téma „respirazóm“) předčasně ukončeny a navazující části začínají velkým písmenem, ačkoli by měly navazovat a být odděleny pouze čárkou.*

V literárním přehledu autorka shrnuje problematiku mitochondriálních patologií s důrazem na strukturu a funkci lidské F_1F_0 -ATP syntázy, zde dobře využívá literární zdroje, které jsou na dané téma k dispozici. Dále se autorka věnuje problematice defektů mitochondriální F_1F_0 -ATP syntázy, které diskutuje v kontextu konkrétních mutací a s nimi spojených patologií. Vzhledem k obrovskému rozsahu literatury o mitochondriích a jejich defektech se autorka zmiňuje o nejdůležitějších faktech. Rozsah této části diplomové práce je dostatečný pro uvedení do problematiky, obsahuje ty nejnovější popř. nejvýznamnější relevantní práce, které provazuje do logického a sevřeného kontextu vystihujícího současný stav poznání v dané oblasti bádání. *Zaujalo mne konstatování hned na první straně literárního přehledu: Mitochondrie mají většinou oválný tvar, s odlišnostmi na druhu tkáně. Shlukují se do rozsáhlých dynamických sítí. Jak je to – jsou mitochondrie typicky oválné, jak je zakresleno na schematickém obrázku na str 14, nebo vytvářejí dynamické sítě a učebnicová představa fazolovitého útvaru je odvozena od artefaktů vzniklých při přípravě vzorků pro elektronový mikroskop?*

Kapitola **materiál a metody** je stručná a dobře zpracovaná, obsahuje všechny důležité informace a umožňuje reprodukování a pochopení experimentů. Metodický rozsah, který si během magisterského studia Sabina Suldovská osvojila je dostatečný pro vytvoření kvalitní diplomové práce – zahrnuje techniky izolace a kultivace buněk, proteinové biochemie včetně kvantifikace proteinového obsahu, SDS-elektroforézy, western blottingu, modré nativní elektroforézy, celé řady enzymatických stanovení a v neposlední řadě molekulárně-biologických technik využitých pro sekvenci genů MT-ATP6 a MT-ATP8.

Výsledky prokazují vědeckou kompetentnost autorky. Získané výsledky jsou jasně formulované a logicky uspořádané. Práce obsahuje jak optimalizaci metodických přístupů, tak originální data, z nichž část se zcela jistě objeví v některé z budoucích publikací pracoviště. Autorce se podařilo optimalizovat celou řadu metod a ty pak využít pro studium mitochondriálních defektů v primárních buněčných kulturách připravených z pacientů postižených příslušnými syndromy i z experimentální buněčné linie Hek293 se sníženou expresí důležitého faktoru zřejmě nezbytného pro složení a stabilitu funkční mitochondriální F_1F_0 -ATP syntázy, proteinu TMEM70. *Zajímavé je zjištění, že ač dochází k poměrně významné změně aktivity komplexu V, tak u buněk se sníženou expresí proteinu TMEM70 nedochází k úbytku příslušného komplexu (analýza a detekce pomocí modré nativní elektroforézy – BNE a western blottingu). Jaké je vaše vysvětlení této kontroverze? Jedná se o anomálii v 3D uspořádání komplexu bez aktivní účasti TMEM70? Je možné pomocí BNE přesně určit molekulovou hmotnost komplexu a konstatovat, že obsahuje všechny podjednotky? Je western blotting a následná analýza pomocí této metody získaných výsledků dostatečně kvantitativní – ve srovnání s metodami enzymologickými?*

Na závěr autorka sekvencuje u vybraných pacientů geny MT-ATP6 a MT-ATP8. Nenalézá zde přítomnost patogenní mutace, u genu MT-ATP6 je však ve všech vzorcích přítomen polymorfismus 8860A-G. *Jaká je frekvence tohoto polymorfismu v naší populaci? Nemůže se jednat o dispoziční, která může být manifestována fenotypickým projevem v kombinaci s jiným polymorfismem, či patogenní mutací?*

Diskuse ukazuje autorčinu schopnost kriticky zhodnotit své experimentální výsledky a uvést je do kontextu s recentní literaturou. Všechny podstatné výsledky jsou zevrubně diskutovány.

Celkově hodnotím předloženou diplomovou práci jako kvalitní. Doporučuji hodnotící komisi její kladné hodnocení. Osobně přeji autorce mnoho úspěchů v dobře nastartované vědecké kariéře.