

Institute of Physiology CAS

Ladislav Vyklicky M.D., DSc.
Department of Cellular Neurophysiology
Institute of Physiology of the Czech Academy of Sciences
Víteňská 1083, 142 20 Prague 4

Telephone: (+420) 24106 2450
FAX: (+420) 24106 2488
E-mail: Ladislav.Vyklicky@fgu.cas.cz
www.biomed.cas.cz/odd031/
www.fgu.cas.cz

Oponentský posudek disertační práce

Název práce: Charakterizace molekulárních komponent kanabinoidní signalizace

Autorka: Mgr. Alena Hájková

Disertační práce Mgr. Aleny Hájkové je zaměřena na studium regulace signalizace zprostředkované receptory spřaženými s G-proteiny. Soustředila se na dva typy těchto receptorů, a to kanabinoidní receptor (CB1R) a metabotropní glutamátový receptor (mGluR). Práce je podána v nezkrácené verzi a je členěna klasicky na úvod, cíle, metody, materiál, výsledky, diskusi, závěr, seznam literatury a autorčiny publikace. Úvod je čtivý a soustředí se v přehledné formě na podání podstatných informací, nezbytných pro vlastní experimentální práci, a logicky vyúsťuje ve stanovení si hlavních experimentálních cílů. Ty byly zaměřeny na hledání molekulárního uspořádání a interakčních partnerů vybraných receptorů spřažených s G-proteiny.

Autorka za pomoci molekulárně biologických technik, především kvasinkového dvouhybridního systému, v kombinaci s vyšetřením pomocí optických technik, ukázala, že protein *Src homology 3-domain growth factor-bound 2-like (endorphin) interacting protein1* (SGIP1) je přímým interakčním partnerem kanabinoidního receptoru. Dále analyzovala funkční důsledky této interakce a ukázala, že: *i.* SGIP1 ovlivňuje zásadním způsobem endocytózu kanabinoidního receptoru; *ii.* kanabinoidní receptor interaguje s β -arrestinem2; *iii.* SGIP1 ovlivňuje kanabinoidní receptor prostřednictvím kináz řízených extracelulárním signálem a *iv.* SGIP1 nemá vliv na G-proteinovou signalizaci kanabinoidního receptoru. Menší pozornost byla věnována mGluR receptorům. Zde autorka ukázala pomocí ko-imunoprecipitace a subcelulární frakcionace, že se mGluR1a a mGluR1b receptory dimerizují.

Dosažené výsledky studia receptorů spřažených s G-proteiny, předložené v disertační práci, přinesly původní nálezy vysoké odborné úrovně, které jsou dobře prezentovány. Některé výsledky byly již publikovány, a to ve dvou člancích renomovaného mezinárodního časopisu – *Neuropharmacology*. Výsledky hodnotím pozitivně, multidisciplinární přístup a užití moderních technik k řešení experimentálních otázek je příkladný a svědčí o mimořádných schopnostech Mgr. Aleny Hájkové, ale i příkladném vedení jejím školitelem. K disertační práci nemám zásadních připomínek.

ZÁVĚR: Předložená disertační práce obsahuje původní nálezy, které významným způsobem rozšiřují naše poznání v oblasti buněčné a membránové fyziologie. Protože autorka v předložené disertační práci dokázala, že má schopnosti řešit experimentální otázky základního výzkumu na vysoké odborné úrovni za použití moderních experimentálních metod, doporučuji, aby Mgr. Aleně Hájkové byl udělen titul Ph.D.

Praha, 10. října 2016

MUDr. Ladislav Vyklický DrSc.

V souvislosti s tématem práce mám otázku:

Jak kanabinoidní receptory, tak SGIP1 jsou přítomné presynapticky, spolu s desítkami dalších typů receptorů, iontových kanálů a strukturálních proteinů. Je internalizace receptoru, vyvolaná jeho aktivací, selektivní proces, zahrnující pouze tento receptor, nebo se jedná o proces, kterým se mění hustota i dalších receptorů, případně existuje nějaká receptorová preference? Podobně, jsou případné další receptory recyklovány ve stejném poměru, v jakém jsou z membrány odstraňovány? Existují obecné funkční důsledky internalizace kanabinoidního receptoru pro presynaptickou regulaci uvolňování přenašeče v centrální nervové soustavě?