

Oponentský posudek disertační práce předkládaný Mgr. Kristýnou Boušovou:

Localization and characterization of Binding sites for Ca²⁺ binding proteins and phosphatidylinositol phosphates on intracellular termini of TRP channels.

Školitel: Ing. Jan Teisinger, CSc.

Cílem předkládané disertační práce bylo identifikovat a charakterizovat vazebné domény pro protein S100A1 na C- koncích proteinů z rodiny TRP kanálů, konkrétně TRPC6 a TRPV1 a dále identifikovat a charakterizovat vazebná místa pro PIP2 nebo PIP3 u N- konců kanálů podtypu M, konkrétně TRPM1 a TRPM4. Úkolem bylo stanovit aminokyseliny účastnící se interakce, zjistit jejich význam a dále charakterizovat sekundární strukturu uvedených domén.

Celá práce má 59 strojopisných stran plus přílohy obsahující 4 původní vědecké články týkající se studované problematiky. Všechny publikace byly vydány v mezinárodních impaktovaných časopisech, v jedné publikaci je kandidátka jako první autor, v jedné jako korespondující autor. Disertační práce je členěna klasickým způsobem. V úvodu je přehledně popsána charakteristika rodiny TRP kanálů, jejich souvislost s onemocněními, struktura a nejznámější interakční partneři. Následují cíle práce a metodická část, kde jsou popsány použité metody, dále výsledky, diskuse k jednotlivým publikacím a souhrn, kde jsou získané výsledky zahrnuty do souvislostí s již známými poznatky z výzkumu TRP kanálů. Práce je také velmi dobře zpracovaná graficky.

Poznámky a dotazy:

- 1) Poněkud matoucí je zařazení kapitol výsledků a diskuse k jednotlivým publikacím, protože zmíněné výsledky jsou zahrnuty v publikaci č. 3.
- 2) Práce je založena na 4 publikacích, na nichž spolupracovalo více autorů. Podílela se kandidátka na všech zmíněných metodách?

3) V testovaném N-koncovém segmentu proteinu TRPM4 byly nalezeny 2 argininové zbytky hrající roli v interakci s PIPs. Ve výsledcích zmiňujete, že jste je vybrali na základě kombinace teoretických a experimentálních metod. Předpokládám, že jste na základě počítačového modelování vybrali tyto dva argininy jako kandidátní aminokyseliny. A následně jste předpoklad ověřili studiem interakcí segmentu TRPM4 s mutovanými vs. nemutovanými argininy. Testovali jste dvojitou mutaci, zvažovali jste také mutaci obou argininů jednotlivě?

Celkové hodnocení:

Disertace je výsledkově i materiálově obsáhlá, jedná se o velmi kvalitní práci, týkající se velmi důležité problematiky. Autorka prokázala jak znalost dané problematiky, tak i schopnost obsáhnout poměrně široké spektrum metod tím i předpoklady k samostatné vědecké práci. Splnila cíle, které si vytyčila, objasnila charakter vazebných míst/interakce vybraných proteinů TRP s S100A1 proteinem i s fosfatidylinositolfosfáty. Výsledky jsou původní, zajímavé, a významně doplňují mezery ve studiu TRP kanálů. Navíc naznačují i další směr výzkumu v oblasti studia těchto kanálů, což je cenné.

Celkově disertace působí uceleným dojmem a je přehledná.

Práci plně doporučuji k závěrečné obhajobě a k udělení titulu PhD.

V Praze 12. 9. 2016

RNDr. Markéta Žáčková, PhD.