

## **Úloha jednotlivých aminokyselinových zbytků první transmembránové domény v deaktivaci P2X7 receptoru**

Posudek školitele na diplomovou práci Michala Kněžů

Bc. Michal Kněžů předkládá k obhajobě svoji diplomovou práci nazvanou „Úloha jednotlivých aminokyselinových zbytků první transmembránové domény v deaktivaci P2X7 receptoru“, kterou vypracoval v Oddělení výzkumu bolesti na Fyziologickém ústavě AV ČR. Jeho diplomová práce navazuje na bakalářskou práci, kterou vypracoval v roce 2020 pod mým vedením.

Tématem diplomové práce Michala Kněžů byly purinergní P2X receptory, konkrétně receptor P2X7 a jeho deaktivční kinetika. Purinergní P2X receptory jsou iontové kanály aktivované extracelulárním ATP, který se uvolňuje z buněk do mezibuněčného prostoru při různých fyziologických i patofyziologických procesech. Není dosud přesně známo, jakým mechanismem dlouhodobá přítomnost ATP nebo jiného agonisty vede ke spontánní sensitizaci P2X7 receptoru a pomalému zavírání jeho iontového kanálu po odmytí agonisty, deaktivaci, a jak transmembránové domény ovlivňují deaktivaci. Cílem práce bylo přispět k objasnění těchto molekulárních mechanismů a identifikovat aminokyselinové zbytky první transmembránové domény, které proces deaktivace mohou kontrolovat. Student se zabýval potkáním receptorem P2X7, který ve srovnání s ostatními P2X podtypy nedesenzitizuje a zavírá se relativně pomalu. Prověřoval úlohu první transmembránové domény a zjistil, že pět aminokyselin, které jsou zároveň důležité pro nepolární (hydrofobní) interakce proteinu a buněčnou membránou, významně ovlivňuje rychlost deaktivace. Ve své práci používal metod elektrofyziologické techniky terčíkového zámku a mikrofluorimetrie. Podílel se na kultivaci a transfekci buněčné linie HEK293T buněk, které ve své práci používal, a na kterých prověřoval funkční vlastnosti receptorů. Pracoval samostatně, během svého studia provedl a dokončil řadu měření, které sám vyhodnotil a práci sepsal. Velmi dobře a rychle se zorientoval v oblasti současné odborné literatury, a své hluboké znalosti o molekulární struktuře P2X7 receptoru využil při psaní diskuse.

Považuji Michala Kněžů za mimořádně nadaného a pracovitého studenta. Rychle se učí nové metody, je přemýšlivý a při práci mimořádně zaujatý. Domnívám se, že splnil všechny požadavky, aby mohl svoji diplomovou práci obhájit. Práci navrhuji klasifikovat známkou „výborně“.

RNDr. Hana Zemková, CSc.  
školitelka

Praha, 27. ledna 2023