

Oponentský posudek na doktorandskou disertační práci „**Interakce vazebných míst nikotinových receptorů s přirozenými a nově syntetizovanými ligandy**“

Autor doktorandské disertační práce: **RNDr Jiří Lindovský**

Dizertační práce RNDr Jiřího Lindovského se zabývá funkčními vlastnostmi nikotinového acetylcholinového receptoru podtypu $\alpha 3\beta 4$. Pomocí elektrofyziologických měření autor zkoumá vliv bodových a kombinovaných mutací záporně nabitých aminokyselin v F-kličkách jednotlivých podjednotek na aktivaci a desensitizaci mutovaných receptorů, exprimovaných v transformovaných fibroblastech z opičích ledvin (COS-1 nebo COS-7).

Práce je předkládána *in extenso*. Vychází z výsledků publikovaných v prestižním impaktovaném časopisu *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes*. Text disertační práce má logické členění. Srozumitelnost textu vhodně usnadňuje kromě výsledkových také 6 schematických obrázků v literárním přehledu. Text doplňuje více než 200 citací.

Obecný úvod popisuje přehledně a srozumitelně strukturu, obecné vlastnosti a mechanismus přenosu signálu prostřednictvím nikotinových receptorů. Vlastní experimentální výsledky se týkají tří jasně formulovaných otázek: 1. Jaký je význam záporně nabitých aminokyselin v F-kličkách podjednotek $\alpha 3$ a $\beta 4$ pro vazbu ortosterických ligandů? 2. Jaký je mechanismus účinku inhibitoru cholinesteráz C-547 na nikotinový neuronální $\alpha 3\beta 4$ a svalový receptor? 3. Jaký je účinek proadifenu, který urychluje desensitizaci svalového nikotinového receptoru, na neuronální $\alpha 3\beta 4$ receptor? Tyto otázky jsou zajímavé z experimentálního i praktického hlediska.

Použité experimentální přístupy jsou rozmanité a technicky velmi náročné. Zahrnují moderní metody molekulární biologie pro přípravu konstruktů mutovaných receptorů, přípravu buněčných kultur, transfekci buněk vytvořenými konstrukty a elektrofyziologické měření odpovědí na stimulaci testovanými látkami z jediné buňky metodou terčíkového zámku v konfiguraci „celá buňka“. Předkládaná dizertační práce přesvědčivě dokládá, že její autor prokázal předpoklady k samostatné a tvořivé vědecké práci. Experimentální výsledky byly publikovány v časopisu s vysokým IF, to znamená po velmi přísném oponentském řízení prováděném renomovanými odborníky v dané oblasti. Získané poznatky mají důležitý význam pro pochopení molekulárních mechanismů uplatňujících se při přenosu signálu neuronálním nikotinovým receptorem. Z praktického hlediska jsou důležité pro vývoj selektivních látek ovlivňujících transmisí na neuronálních nikotinových synapsích, které mohou najít v dohledné budoucnosti uplatnění v klinické medicíně, a pro hodnocení vedlejších účinků látek s potenciálním využitím v lidské medicíně.

Závěr:

Nemám žádné výhrady ani k experimentální ani k interpretační stránce disertační práce a doporučuji její obhájení. Dizertační práce prokazuje kvalifikaci autora pro udělení titulu „Ph.D.“ za jménem.