

Posudek školitele na disertační práci Mgr. L. Svobodové „Studium aktivace a modulace svalových nikotinických acetylcholinových receptorů pomocí bodových mutací.”

Mgr. Lucie Svobodová začala pracovat na své disertační práci v roce 2003 v naší skupině ve Fyziologickém ústavu, která se zabývá studiem molekulárních vlastností nikotinických receptorů. Používala zejména metodu terčíkového zámku k měření iontových proudů vyvolaných rychlou aplikací roztoků na buňky obsahující nikotinické receptory a metody molekulární biologie k přípravě receptorů definovaného podjednotkového složení s vybranými bodovými mutacemi. Pracovala samostatně a cílevědomě.

Naše skupina se zabývá studiem role různých částí vazebného místa pro agonisty při aktivaci a desensitizaci receptoru. Zájem o physostigmin vyplynul z informace, že tato látka je schopná aktivovat nikotinické receptory z jiného vazebného místa než acetylcholin. Proto jsme ho chtěli použít k aktivaci receptorů nezávislé na mutacích ve vazebném místě pro klasické agonisty, protože některé mutace mohou vazebná místa natolik poškodit, že z nich nelze receptor aktivovat. Ukázalo se, že physostigmin není schopen samostatně vyvolávat makroskopické proudy na našem modelu, to je na myším svalovém nikotinickém receptoru exprimovaném v COS buňkách. Při podrobnějším studiu se ukázalo, že i jeho působení na odpovědi vyvolané acetylcholinem se výrazně odlišuje od dosud publikovaných výsledků na jiných modelech nikotinického receptoru a rozhodli jsme se je podrobně prostudovat. Proto má práce L. Svobodové dvě relativně samostatné části. V první části se zabývá srovnáváním účinku vybraných bodových mutací ve vazebném místě na aktivaci a inhibici receptoru. Vyšetřování vlivu mutací na činnost antagonistů ve funkčních studiích je komplikováno tím, že činnost antagonisty je nutné vždy srovnávat s aktivací některým z agonistů. Proto bylo nutné rozvinout různé modely aktivace a najít metody, jak oddělit účinky mutací na aktivaci receptoru agonistou od účinků specifických pro vazbu antagonisty a kvantifikovat je. Dosažené výsledky pomohly zpřesnit představu o pohybech vazebného místa spojených s aktivací kanálu. Druhá část práce je zaměřena na proměření a analýzu účinků physostigminu na našem modelu. Bylo nalezeno několik dosud neznámých originálních účinků, které se podařilo popsat alosterickým modelem činnosti physostigminu a které byly publikovány ve dvou článcích. Vzhledem k dosaženým výsledkům, rozsahu a celkové úrovni práce doporučuji přijetí práce k obhajobě.

RNDr. Jan Krůšek, CSc.

Praha 6. 5. 2009

školitel

