

Praha 25.5.2010

Oponentský posudek k diplomové práci Bc. Štěpány Boukalové: Úloha konzervovaných aminokyselinových zbytků v S4/S4-S5 oblasti vaniloidních TRP receptorů.

Diplomová práce se zabývá zkoumáním mechanismu napětíové, teplotní a chemické citlivosti vaniloidního receptoru TRPV1. Je vypracována velmi svědomitě. Obsahuje celkem 67 stránek textu, který je přehledně rozdělen do devíti kapitol (včetně seznamu zkratk a cílů práce). Literární přehled a úvod do problematiky je vhodně doplněn třemi schematickými obrázky, které usnadňují pochopení textu. Metody a výsledková část práce jsou ilustrovány čtrnácti obrázky. O pečlivosti nastudování problematiky vypovídá celkem 132 citací.

Metodická část diplomové práce přehledně popisuje použité moderní metody molekulární biologie a elektrofyziologie. Základním přístupem je tvorba cílených bodových a dvojitých mutací podjednotek receptoru TRPV1 v oblasti transmembránových segmentů S4, S5 a intracelulární klíčky mezi těmito segmenty, a jejich exprese v buňkách linie HEK293. Funkční vlastnosti exprimovaných mutovaných receptorů jsou zkoumány elektrofyziologicky měřením proudů vyvolaných změnou napětí, chemickým agonistou (kapsaicin, 2-aminoctoxydifenylborát) nebo změnou teploty v konfiguraci „whole cell patch clamp recording“. Výsledková část přináší množství dat, které jsou shrnuty v deseti obrázcích. Význam výsledků je náležitě probrán a zhodnocen v diskuzi.

Práce přináší původní výsledky, které odhalují funkční interakce aminokyselin R557/E570 a D576/R579 při aktivaci receptoru TRPV1 různými podněty. Dále ukazuje, že aminokyseliny R557 a D576 jsou pravděpodobně součástí napětíového senzoru receptoru TRPV1. Velmi zajímavé je též zjištění, že aminokyselina K571 je nezbytná pro aktivaci receptoru TRPV1 agonistou 2-aminoctoxydifenylborátem, který aktivuje receptory TRPV1-3. Výměna odpovídajících aminokyselin u receptorů TRPV2 a TRPV3 však nemá na jejich aktivaci 2-aminoctoxydifenylborátem vliv, což ukazuje na specifické rozdíly v mechanismu aktivace i mezi členy podrodiny receptorů TRPV.

Vaniloidní receptory slouží jako primární senzory bolesti, která může být vyvolána například teplem nebo snížením pH při zánětlivých reakcích. Znalosti mechanismů vzniku a přenosu bolesti jsou zajímavé nejen z teoretického hlediska, ale jsou také nezbytné pro nalezení terapie nepřírodných bolestivých stavů. Práce Bc. Štěpány Boukalové má vynikající úroveň po stránce výsledkové i formální a proto ji doporučuji k obhájení bez jakýchkoliv výhrad a ohodnotit známkou výborné.

MUDr. Vladimír Doležal, DrSc.
Fyziologický ústav AVČR
Videňská 1083
14220 Praha 4