

Institute of Physiology AS CR

Ladislav Vyklický Jr., M.D., DSc.
Department of Cellular Neurophysiology
Institute of Physiology AS CR v.v.i.
Václavská 1083, 142 20 Prague 4

Telephone: (420) 24106 2450
FAX: (420) 24106 2488
E-mail: vyklicky@biomed.cas.cz
<http://www2.biomed.cas.cz/d331/index.html>

Oponentský posudek disertační práce

Název práce: Úloha metabotropních a glutamátových receptorů a proteinů, které s nimi migrují, ve fyziologické signalizaci a patologii

Autor: Mgr. Jiří Kumpošt

Předložená disertační práce je členěna do 6 hlavních částí, s celkovým rozsahem 124 stran. Úvod práce je přehledný a přináší základní údaje o receptorech spřažených s trimerními G-proteiny se zaměřením na metabotropní glutamátové receptory. Autor shrnul důležité informace o strukturních vlastnostech glutamátových receptorů, jimi zprostředkované signalizaci, o ovlivnění jejich funkce desensitizací, internalizací a farmakologickými látkami. Dále tato kapitola charakterizuje úlohu metabotropních glutamátových receptorů v regulaci fyziologických procesů, během synaptického přenosu a interakci s některými postsynaptickými receptory, které mají vztah k duševním poruchám. Text je srozumitelný a vhodně doplněný ilustrativními obrázky. Z hlediska odborného, literární přehled je zakončen logickým položením experimentálních otázek. Cílem práce bylo: (*i.*) charakterizovat možnou interakci dlouhých a krátkých sestřihových variant metabotropních glutamátových receptorů typu mGluR1a/b a (*ii.*) popsat, jak mutace genu interleukin-receptor accessory protein-like 1 (IL1RAPL1) může na molekulární úrovni objasnit vznik mentální retardace. Metodická část popisuje moderní molekulárně-biologické techniky, které autor použil, a okrajově techniky, které užili jeho kolegové a jsou důležité pro pochopení výsledkové části práce.

Experimentálně se práce opírá především o vtipně navržené pokusy využívající molekulárně biologické techniky v kombinaci s funkčním vyšetřením. Autor ukázal, že sestřihové varianty metabotropních glutamátových receptorů typu mGluR1a a typu mGluR1b tvoří funkční receptory, a že mGluR1a má chaperonový efekt pro transport mGluR1b na plazmatickou membránu. Dále se podařilo ukázat, že interleukin-receptor accessory protein-like 1 (IL1RAPL1) se nachází v postsynaptických densitách, kde interaguje s PSD-95, a tím stabilizuje excitační synapse. Výsledky jsou adekvátně diskutovány.

Dosažené výsledky studia metabotropních glutamátových receptorů a jejich proteinových partnerů v synapsích, předložené v disertační práci, přinesly původní nálezy vysoké odborné úrovně, které jsou dobře prezentovány. Některé výsledky byly již publikovány v prestižních mezinárodních časopisech – *Neuropharmacology* a *Current Biology*. Výsledky hodnotím pozitivně a multidisciplinární přístup k řešení experimentálních otázek je příkladný a svědčí o mimořádných schopnostech Mgr. Kumpošta. K disertační práci nemám zásadních připomínek.

ZÁVĚR: Předložená disertační práce obsahuje původní nálezy, které významným způsobem rozšiřují naše poznání v oblasti neurobiologie. Protože autor v předložené disertační práci dokázal, že má schopnosti řešit experimentální otázky základního výzkumu na vysoké odborné úrovni za použití molekulárně biologických, morfologických a funkčních metod, doporučuji, aby Mgr. Jiřímu Kumpoštovi byl udělen titul Ph.D.

Praha, 5. října 2011

MUDr. Ladislav Vyklický DrSc.

K práci mám drobné připomínky, které může autor využít při sepisování dalších prací: není třeba v případě Ca^{2+} doplňovat, že se jedná o ionty; když se hovoří o vodivosti je lépe užít ... vodivost iontového kanálu, ne receptoru; „fosforylace serinu AMPAR (strana 46) zvyšuje vodivost receptoru“, je nepřesné vyjádření fosforylace serinu AMPAR neovlivňuje vodivost těchto iontových kanálů, ale zvětšuje amplitudu jimi zprostředkované komponenty excitačních postsynaptických proudů; práce není postavena na statistickém hodnocení, ale stalo by za zvážení v textu uvést, zda se jedná o SD nebo SEM, jaký byl počet měření a jaký test byl užít pro statistické zhodnocení rozdílů.

V souvislosti s tématem práce mám dvě otázky: (1.) Obrázek 27 ukazuje pro mě trochu překvapivá data, a sice že při stejné změně F/F_0 (která je podmíněna stejnou změnou intracelulární koncentrace Ca^{2+}) se doba návratu odpovědi liší v závislosti na různých sestřihových variantách mGluR1 a jejich kombinacích. Jak a na jak dlouho byl aplikován quisqualát? Není devět buněk málo? (2.) Práce mě zaujala a z vědeckého hlediska považuji experimenty s rekombinantními receptory za velmi zajímavé. Máte data, která by ukazovala, že v neuronech (nativních receptorech) dochází k podobným efektům, jaké jste popsali pro rekombinantní receptory?