

Oponentský posudek na doktorandskou disertační práci „**The role of charged residues in the activation and modulation of the TRPA1 ion channel**“ („**Význam nabitých reziduí pro aktivaci a modulaci iontového kanálu TRPA1**“)

Autorka doktorandské disertační práce: **Mgr. Lucie Zímová**

Disertační práce Mgr. Lucie Zímové se zabývá úlohou cytoplazmatické C-terminální domény iontového kanálu TRPA1 (transient receptor potential A1) na jeho funkci. Tento kanál slouží primárně pro vnímání fyzikálních a chemických (bolestivých) signálů z okolí periferních zakončení nociceptivních neuronů. Výsledky studií předkládané v disertační práci přináší původní poznatky o fungování tohoto kanálu, které jsou nezbytné pro objasnění mechanismu vzniku patologických bolestivých stavů a tím i vývoj racionálních terapeutických postupů.

Práce je předkládána ve zkrácené formě v anglickém jazyce. Vychází z výsledků publikovaných v prestižních impaktovaných časopisech (Biochemical Journal, Journal of Biological Chemistry a Neuropharmacology). Text disertační práce má logické členění. Úvodní část literárního přehledu se zabývá klasifikací a funkcí jednotlivých členů rodiny TRP kanálů a jejich účastí při patologických stavech. Druhá část literárního přehledu je věnována základním vlastnostem ankyrinového receptoru (TRPA1), jehož experimentální studium bylo náplní disertační práce. Literární přehled je pro usnadnění pochopení textu vhodně doplněn sedmi schematickými obrázky a přehlednou tabulkou ligandů TRPA1 receptoru. Po literárním přehledu navazuje jasné stanovení cílů disertační práce. Jsou zaměřeny na objasnění molekulárních mechanismů, kterými se C-terminální konec kanálu TRPA1 podílí na regulaci jeho funkce, a objasnění strukturální podstaty lidského dědičného bolestivého syndromu („familial episodic pain syndrome“), který je následkem přirozeně se vyskytující jednobodové gain-of-function mutace N855S. Studium funkce C-terminálního konce kanálu zahrnuje zjišťování vlivu bodových mutací bazických aminokyselin na vrátkování kanálu, mutací aminokyselin kyselého „clusteru“ C terminálního konce a zkrácení C-terminálního konce kanálu na regulaci receptoru vápníkovými ionty a ověření navrhovaných interakcí mezi „clusterem“ a vápníkovými ionty pomocí homologního modelování a simulace molekulární dynamiky.

Metody, použité chemikálie a roztoky, matematické vyhodnocování naměřených dat, statistické zpracování výsledků a molekulární modelování jsou srozumitelně popsány a ilustrovány čtyřmi obrázky na devíti stránkách. Použité experimentální přístupy jsou rozmanité a technicky velmi náročné. Zahrnují moderní metody molekulární biologie pro přípravu konstruktů mutovaných receptorů, přípravu buněčných kultur a transfekci buněk vytvořenými konstrukty. Účinnost transfekce a membránovou lokalizaci konstruktů stanovovala pomocí fluorescenčních měření. Měření funkčních odpovědí na stimulaci testovanými látkami prováděla elektrofyziologicky měřením odpovědí z jediné buňky metodou terčíkového zámku v konfiguraci „celá buňka“.

Výsledky a diskuse jsou společné, s odkazy na přiložené články. Na devíti stránkách stručně, ale přehledně a srozumitelně, interpretuje získané výsledky.

Vlastní disertační práce cituje 92 publikací (bez citací uvedených v příložených vlastních publikacích). Předkládaná disertační práce přesvědčivě dokládá výbornou orientaci autorky ve studované problematice a potvrzuje její vynikající předpoklady k samostatné a tvořivé vědecké práci. Původní experimentální výsledky byly publikovány třemi různými časopisy s vysokým IF (všechny v 1. kvartilu hodnocení podle WoS), což znamená po velmi přísném oponentském řízení vedoucími odborníky v dané oblasti výzkumu. Získané poznatky mají důležitý význam pro pochopení molekulárních mechanismů aktivace TRPA1 receptoru, které se uplatňují při vzniku signálu pro bolest, a nepochybně najdou uplatnění při hledání terapeutických postupů pro léčbu patologických bolestivých stavů.

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

8.7.2015



MUDr Vladimír Doležal, DrSc

Fyziologický ústav AVČR  
Oddělení neurochemie  
Víteňská 1083  
14220 Praha 4

tel: +420 296442287  
e-mail: dolezal@biomed.cas.cz