

## Posudek oponenta

na disertační práci  
Mgr. Anny Kádkové

### *"Functional and structural study of thermally activated TRP ion channels: The role of evolutionary conserved motifs in the TRPA1 modulation"*

Předložená disertační práce analyzuje pomocí kombinace experimentálních přístupů (řízené mutagenese, transfekce modelových buněk, elektrofyziologická měření metodou "patch clamp") a strukturních závěrů z výpočetních studií (provedených na kooperujícím pracovišti) strukturní roli a potenciální biologický význam evolučně konzervovaných opakujících se sekvenčních motivů v ankyrinových receptorech sensorových nervových buněk.

Práce je sepsána v anglickém jazyce, je přehledná a čtivá. Obsahuje 55 stran textu, 19 obrázků a 128 literárních odkazů; její přílohou jsou kopie tří originálních publikací, na nichž se disertantka autorsky podílela (z toho v jednom případě jako první autor), a kopie jednoho přehledného článku, jehož je také spoluautorkou. standardně členěna

Text práce je standardně členěn (úvod, přehled literatury, cíl práce, materiál a metody, výsledky a diskuse, závěr), na druhou stranu jeho rozsah (a to jak celku, tak jednotlivých částí) odpovídá spíše "komentáři k souboru publikací". Tento "hybridní charakter" textu považuji za jistou slabinu práce (i když uznávám, že jde spíše o otázku vkusu). Z faktického hlediska přitom část "výsledky a diskuse" pochopitelně odráží obsah přiložených originálních publikací, z pohledu čtenáře (a oponenta) je ovšem poněkud komplikující to, že jednotlivé části neodpovídají přesně přiloženým publikacím (části 5.1 a 5.2 příloze 1, část 5.3 příloze 2 a části 5.4 a 5.5 příloze 3) a přitom se na tyto přílohy přímo neodkazují.

Z věcného pohledu je možné říci, že autorka se zaměřila jen na některé, nejzajímavější z výsledků. Velmi oceňuji jasné a precizní vymezení autorského podílu disertantky na jednotlivých publikacích. Na druhou stranu právě z něj se mi zdá vyplývat, že disertantka nepředstavila v textu ani všechna data, která jsou výsledkem především (nebo výhradně) její práce. Myslím si, že je to do určité míry škoda a že se tím Mgr. Kádková nepochybně ochudila. Také jsem plně nepochopil, proč jsou obrázky v disertaci jistou "zúženou editací" korespondujících obrázků v přiložených originálních publikacích, a to i pokud jde o experimentální data - to místy čtenáři poněkud ztěžuje plné pochopení diskutovaných výsledků (týká se to např. diskuse mutací Thr a Ser v T(S)PLH sekvenčních motivech, diskutované na str. 43 práce - k jejímu pochopení by rozhodně přispělo uvedení grafů, prezentovaných na vložených panelech Fig. 3, 5 a 6 v publikaci 1). Pro ilustraci

uvádím vzájemné "přiřazení" obrázků - obr. 14 A, B odpovídá Fig. 2, D, E (P1), obr. 15 A, B Fig. 4 A, B P1, obr. 16 A (část 5.2.) Fig. 7 C, obr. 16 B Fig 8 A P1, obr. 17 A (část 5.3) Fig. 2 A (P2), 17 B Fig. 4 C (P2), obr. 18 (část 5.4) je kombinací a zjednodušením Fig. 3 a Fig. 5 z publikace 3 a obr. 19 (část 5.5) je zjednodušením Fig. 1 z téže publikace.

Je pravda, že část "vysvětlujících panelů", které osvětlují čtenáři podstatu provedených experimentů a ilustrují charakter získaných primárních experimentálních dat, je zastoupena obr. 12 a 13 v metodické části, přesto si ale myslím, že by prosté převzetí celých panelů z příložených publikací (s případným uvedením, která část obrázku byla vytvořena některým ze spoluautorů) bylo významným usnadněním práce a zjednodušením pro autorku, a nakonec by prospěla i čtenářům práce. Je možné, že motivací disertantky byla obava z "autoplagiátu", popř. z porušení vydavatelských práv k jednotlivým časopisům. Necítím se kompetentní posoudit tento právní aspekt věci, ale bylo by zřejmě dobré jej do budoucna objasnit.

Shora uvedené poznámky nepředstavují výtky a nijak nesnižují mé celkově vysoce pozitivní hodnocení práce. Podle mého soudu v ní disertantka plně prokázala schopnost samostatné vědecké práce, zvládnutí obtížných experimentálních metod i porozumění výsledkům modelování struktury proteinů.

### **Proto doporučuji práci Mgr. Anny Kádkové k obhajobě.**

K práci mám následující dotazy:

1. Na str. 43 práce je zmíněn rozdíl v chování mutantů s náhradou Thr a Ser. Nelze tento rozdíl částečně vysvětlit rozdílem ve velikosti zaměněných postranních řetězců? (Jak Ala, tak Asp jsou výrazně větší než Ser, je tedy obecně pravděpodobnější, že taková mutace povede ke změně konformace; naproti tomu Ala a Thr jsou dosti podobné velikosti.)
2. Jsou nějaké konkrétnější představy o strukturním nebo funkčním významu opakujících se h-t-h motivů a o specifické konformaci, spojené se sekvenčními motivy TPLH a SPLH?
3. Obrázek 6 v práci (str. 22) naznačuje možnost interakce mezi C-koncovými  $\alpha$ -helixy (předpokládám, že se jedná o helixy, označované jako H4 až H6 na obr. 19 na str. 54 práce) a úsekem AR11 až AR17. Předpokládá se nějaká taková (funkční?) interakce, nebo jde o pouhé grafické zjednodušení obrázku?

V Praze, 30. 8. 2016

Prof. RNDr. Jiří Hudeček, Csc.