

Posudek na disertační práci *Mgr. Viktora Sinicy* „**Molekulární mechanismy polymodální regulace TRPA1 receptoru**“.

Zvolené téma disertační práce pokrývá poměrně širokou škálu studia molekulárních mechanismů polymodální regulace TRPA1 receptoru a jejich objasnění. Je potřeba hned na počátku konstatovat, že jak téma práce tak i cíle disertace jsou velmi ambiciózní a poměrně komplikované je i sám předmět polymodality zkoumaných jevů. O to více oceňuji jak přístup studenta tak i jeho vedení školitelem.

Studovaný TRPA1 kanál je univerzální buněčný nociceptivní senzor, který je aktivován celou řadou vnějších podnětů. Stručně řečeno, signály na které kanál reaguje mohou být jak fyziologické tak patologické a stejně tak i TRPA1 odezva. Je tedy jasné, že jde o komplexní děj u kterého je složité definovat jak studovanou soustavu samotnou, dostatečně reprezentativní pro formulaci závěrů, tak její hraniční podmínky. Aby bylo možné účinně a selektivně zacílit mechanismy synergických účinků TRPA1 aktivátorů a zároveň zachovat fyziologickou úlohu iontového kanálu, je nezbytné poznat mechanismy polymodální regulace TRPA1 na molekulární úrovni. To je také ve své podstatě cíl této předkládané práce.

Předložená disertační práce obsahuje výsledky studia pro 3 mechanismy regulace TRPA1 kanálu: i) buněčné signální kaskády a fosforylace, ii) interakce s membránovými fosfolipidy a iii) změny teploty. Výsledky jsou originální a původní, což mimo jiné dokladuje seznam přiložených publikací na kterých je Viktor Sinica autorem a ve dvou případech prvoautorem (v jednom případě jde o sdílené spoluautorství), publikované v impaktovaných časopisech. Předkladatel definuje celkem 6 cílů které byly během prací na projektu zkoumány a nutno říci, že i splněny. Už jen výčet cílů a přístupů k řešení je důkazem že jde skutečně o adresování zmíněné polymodality funkcí TRPA1. Práce cílí na objasnění vlivu nízkofrekvenčního, vysokoindukčního elektromagnetického pole, roli koncové aminokyseliny Serin jako cíle fosforylace, efektu AKAP79/150 na zvýšení citlivosti kanálu, úlohu polárních aminokyselin v intracelulární kavitě kanálu, úlohu celého C konce na vazbu fosfatidylinositol-4,5-bisfosfátu a současně jeho zkoumání z hlediska modulace dalšími vlivy a konečně objasnění teplotně a napěťově závislých vlastností kanálu.

Cíle a téma disertace by podle mého názoru stačily na 2 disertační práce a oceňuji jak systematickosti přístupu tak i úroveň zpracování. Práce je rozdělena do celkem 9 částí, z nichž nejdůležitější je literární rešerše (evidentně hotové review zkoumané problematiky), popis použitých metod, shrnutí výsledků publikovaných článků, diskuse a závěr. Aniž bych cílil na to vyvolat dojem nespokojenosti, jsem překvapen, že disertační práce je skutečnou disertační prací a ne pouze zkrácenou verzí doprovázející přiložené publikace. Už jen samotná metodická část je pojata tak důkladně, že společně s předcházející částí může sloužit jako manuál pro další studenty nebo v oboru působící kolegy. Za vůbec nejdůležitější část považuji Discussion, kde předkladatel nazírá dosažené výsledky v kontextu a určitým způsobem, byť nepřímo, ukazuje komplexnost dějů ovlivňujících chování kanálu. Práce je psána dobrou angličtinou s minimálním množstvím překlepů. O její celkové kvalitě nemám žádné pochybnosti. Velmi přesvědčivě je ukotvena na publikovaných výsledcích v impaktovaných časopisech.

Je třeba také zmínit, že za dosaženými výsledky stojí i týmová práce ve skupině vedoucího práce a jeho zásadní podíl na celkovém vedení Viktora Sinicy. To dovoluje jednak čerpat ze zkušeností řešitelského kolektivu a zároveň definovat cíle pro samostatné vědecké bádání které

je založeno na dosažených výsledcích. Tím je i zodpovězena otázka, jak je předkladatel schopen působit v rámci vědecké skupiny a na kolik jsou jeho výsledky skutečným zvládnutím dané problematiky a samostatného přístupu.

Celkově tedy hodnotím předkládanou disertační práci Viktora Sinicy jako výbornou, a vřele doporučuji k dalšímu řízení pro obdržení titulu PhD.

Rád bych, aby v diskusi a při obhajobě předkladatel zareagoval na následující otázky a podněty:

- 1) Komplexní děje a jejich popis, speciálně na biologických systémech, jsou komplikovány složitostí a vzájemnou, ne jednoduše adresovatelnou synergií jednotlivých zkoumaných dějů. Za normálních podmínek je funkce kanálu současně ovlivňována mnoha stimuly. Předpokládám, že na celkovou funkci kanálu i v rovnováze, působí značná řada podmínek, které přesto dávají možnost nějak definovat rovnovážný stav. Dá se vůbec nějak definovat tento rovnovážný stav kanálu a pokud ano jaké podmínky tento stav definují
- 2) Zaujala mě část ve které se popisuje termodynamika teplotní aktivace kanálu. Pokud chápu správně jde o teplotou indukovaný jev při němž se exponují hydrofobní aminokyseliny při rozvolňování existující struktury za normální teploty a celý děj je pravděpodobně entropicky řízený. Zajímalo by mě, za jakých podmínek byly tyto studie prováděny, tedy jak vypadal studovaný systém, jak byly definovány hraniční podmínky a jakým způsobem byly studované termodynamické děje měřeny.
- 3) Molekulární popis kanálu pomocí výpočetních metod je komplikován jeho velikostí a tím pádem opět definicí systému. Jaké podmínky byly při dějích zkoumaných molekulární dynamikou definovány a na jaké úrovni jsou výsledky získané výpočetními metodami korelovatelné s experimentálními výsledky. Nemám teď na mysli pouze informace o struktuře ale spíše o dynamice celého systému případně změně termodynamických proměnných.