



Mgr. Blanka Holendová, PhD.
Oddělení mitochondriální fyziologie, Fyziologický ústav AV ČR
Vídeňská 1083, 14220, Praha, Česká republika

Oponentský posudek dizertační práce Mgr. Viktora Sinici

Předkládaná dizertační práce „Molekulární mechanismy polymodální regulace TRPA1 receptoru“ shrnuje obsáhlé znalosti o iontovém kanálu transient receptor potential ankyrin 1 (TRPA1). Tento unikátní transmembránový kanál, který zároveň slouží i jako receptor, je jediným členem podrodiny TRPA. Je aktivován celou řadou podnětů, které se mohou vzájemně ovlivňovat, a modulovat tak aktivitu tohoto kanálu. Dizertační práce se zabývá důležitými mechanismy regulace aktivity TRPA1 na molekulární úrovni- regulacemi pomocí buněčných signálních kaskád a fosforylace, interakcemi s membránovými fosfolipidy a regulací změnou okolní teploty. Získaná experimentální data jsou navíc dána do souvislosti s detailními poznatky o struktuře TRPA1, které byly získány v posledních letech díky velkému rozvoji kryo-elektronové mikroskopie. Práce je založena na 6 experimentálních článkách a 1 review publikovaných v impaktovaných časopisech, které prošly recenzním řízením.

Dizertační práce je přehledně členěna na jednotlivé části. Úvod patřičně shrnuje dosavadní poznatky v oblasti struktury a regulace TRPA1, a je dostatečným základem pro předložené cíle, výsledky a diskuzi. Cíle práce jsou jasně definovány.

Dizertační práce shrnuje velké množství poznatků, a není pochyb o tom, že Mgr. Sinica úspěšně odvedl obrovský kus experimentální práce, a měl možnost se během svého postgraduálního studia seznámit s mnoha laboratorními metodami (příprava buněčných kultur, metody pro zobrazování koncentrace vápníku, elektrofyziologická měření, techniky molekulární biologie). I když je jeho podíl na jednotlivých dílčích částech publikovaných prací zmíněn, chvílemi bylo těžké orientovat se v tom, která data byla získána v experimentech Mgr. Sinici, a která jsou prací jeho kolegů. Drobnou výtku bych směřovala k občasným chybám v anglickém jazyce- slovosledu ve větách a překlepům.

Dizertační práci Mgr. Viktora Sinici hodnotím jako nadprůměrnou, a velmi ráda ji doporučuji k obhajobě.

V Praze dne 25.5.2021

Mgr. Blanka Holendová, PhD.

Dotazy k předkládané dizertační práci:

- 1.) TRP kanály jsou známy tím, že vytvářejí heterotetramery s dalšími členy této rodiny. Je něco podobného známé i u TRPA1? Tvoří heterotetramery např. s TRPV1? Jaká je funkce těchto heterotetramerů?
- 2.) Elektrofilní modifikace aminokyselin nemusí být nutně kovalentní a způsobovat nevratné změny. Např. oxidace pomocí ROS může vést k reversibilním změnám, a působit jako signál. Zaujalo mě zmínění lysinu 710, co by cíle elektrofilní modifikace. Posttranslační modifikace lysinů je velmi aktuální a zajímavé a ne úplně prozkoumané téma. Jaký typ modifikace by tedy mohl existovat u tohoto aminokyselinového zbytku?
- 3.) Existují nějaké důkazy v literatuře o tom, zda během zánětu v organismu dochází ke zvýšené expresi TRPA1? Mohl byste na základě Vašich poznatků publikovaných v článcích I a II navrhnout mechanismus působení TRPA1 v zánětlivé reakci?
- 4.) Proč jste si jako fosfonull mutaci vybrali výměnu za glycin u serinu 602? Výměna za glycin často vede k velkému zásahu do struktury studovaného proteinu, nebylo by lepší vyměnit tedy serin např. za alanin?
- 5.) Homologní model výsledné struktury je tak dobrý, jak je dobrý zvolený templát. Jaká byla sekvenční homologie a podobnost při modelování intracelulární smyčky mezi helixy S2 a S3 a zvolenými templáty?