

# OPONENTSKÝ POSUDEK DISERTAČNÍ PRÁCE

nazvané

## Modulační mechanismy nociceptivních TRP kanálů

Autorka disertační práce: **Mgr. Lenka Maršáková**

### Hodnocení:

Dizertační práce Lenky Maršákové se zabývá studiem struktury a funkce TRP kanálů, které se vyskytují především v nociceptorech a hrají roli ve vnímání teploty. Ke studiu TRP kanálů použila metody molekulární biologie, elektrofyziologie a fluorescenčních metod vápníkového imagingu a FRET. Výsledky, které autorka během studia získala, nebo na kterých se podílela, jsou rozděleny do tří částí. V první části disertační práce, která vyústila v publikaci s prvním autorstvím, se autorka zabývá mechanismem působení kafru na TRPV1 kanál. Nalezla, že kafr přímo aktivuje TRPV1 receptor a má potenciační vliv na účinek kapsaicinu, tepla a depolarizačního napětí, ale ne na účinek nízkého pH. Pomocí chimérických receptorů a bodových mutací zjistila, které části kanálů hrají roli v účinku kafru. Dokováním molekuly kafru v modelu TRPV1 kanálu určila pravděpodobné místo vazby kafru mezi helixy S1-S2, a S5-S6. Podrobné studium mechanismu a místa účinku kafru autorka doplnila fluorescenčními pokusy, které prokázaly příspěvek PIP2 v membráně v účincích kafru. Ve druhé části práce popisuje úlohou S4 a S4-S5 oblastí TRPV1 receptoru v jeho napěťové, chemické a teplotní citlivosti. Pomocí mutagenese a následné elektrofyziologické charakterizaci mutantních receptorů byly identifikovány nabitě aminokyseliny této oblasti, které hrají klíčovou roli v citlivosti receptoru. Třetí částí práce se zabývá úlohou C-konce TRPA1 kanálu v modulaci aktivace a inaktivace receptoru Ca<sup>2+</sup> ionty. Byly identifikovány záporně nabitě aminokyseliny, které jsou důležité pro vápníkovou modulaci odpovědi vyvolaných agonisty TRPA1 kanálu, a které by mohly být místem vazby Ca<sup>2+</sup> na receptor.

Dizertační práce shrnuje výsledky tří primárních publikací, které byly otištěny ve vynikajících mezinárodních časopisech s průměrným IF=5,380. Přílohou práce je dále jeden přehledný článek v časopise s IF=3,404 a jedna neimpaktovaná práce. Jedná se o vynikající dizertační práci, jejíž výsledky zásadním způsobem přispěly k porozumění vztahu mezi strukturou a funkcí TRP kanálů, především TRPV1, a rozšířily naše znalosti o mechanismech jejich aktivace a modulace.

### Obecné poznámky:

Práce je předložena ve formě, která odpovídá úplné formě disertační práce. Má standardní členění na „Literární úvod“ (40 stran), „Cíle studie“, a „Materiál a metody“ (10 stran), „Výsledky“ (18 stran) „Diskuse, souhrn a závěr“ (16 stran), celkem má práce 121 stran včetně obrázků, 8 tabulek a 230 literárních odkazů. Je doplněna výtisky publikovaných prací. Možná nebylo nutné závěr práce dále dělit na „Souhrn“ a „Závěr“, ale tato připomínka nic nemění na tom, že se i po formální stránce jedná o práci dokonale zpracovanou.

### Drobné poznámky:

Drobné poznámky byly již dříve autorce předány a jsou v konečné verzi opraveny.

Otázky:

1. Několikrát je v práci zmíněno, že por TRP kanálů může zvětšovat svůj průměr, dilatovat. Jak lze prokázat zvětšený průměr póru TRPV1, jaký rozměr může mít dilatovaný pór a je dilatace spojena se změnou citlivosti receptoru?
2. Kafr je částečným agonistou TRPV3 a TRPM8 a působí inhibičně na TRPA. Vyskytují se rezidua predikovaná pro vazbu kafru na TRPV1 (např. W427, K432 atd) také na těchto receptorech a do jaké míry je podobné aminokyselinové složení S1, S2, S5, S6 receptorů citlivých na kafr?

V Praze, dne 12.2.2013

Posudek vypracovala:

RNDr. Hana Zemková, CSc.  
Fyziologický ústav AVČR  
Václavská 1083  
142 20 Praha 4  
Tel.: +420-2 4106 2574  
Fax: +420 2 4106 2488  
e-mail: [zemkova@biomed.cas.cz](mailto:zemkova@biomed.cas.cz)