

Posudek na disertační práci Mgr. Lenky Gryčové „Studium vztahů mezi strukturou a funkcí C-konce vaniloidního receptoru TRPV-1“.

Práce je napsána v úplné formě a je doplněna textem dvou již vyšlých publikací. Autorka je kromě dvou již zmíněných prací spoluautorkou ještě jednoho článku v mezinárodním časopisu a šesti příspěvků na konferencích. Vlastní text práce má 75 stran, pak následují obě publikace a práce je ukončena rozsáhlým seznamem citované literatury o 165 položkách. Text vlastní práce je uveden seznamem publikovaných prací autorky, seznamem zkratk a má standardní uspořádání. Literární přehled shrnuje dosavadní poznatky o struktuře a funkci TRP rodiny iontových kanálů se zaměřením na podtyp TRPV1. Zvláštní pozornost je věnována modulaci a fosforylaci kanálu a vlastnostem C-koncové části proteinu. Cíle práce jsou stanoveny jasně. Část Materiál a metody shrnuje použité metody molekulární biologie, biochemie, metody fluorescenční spektroskopie a molekulárního modelování. Metody jsou na velmi vysoké úrovni a jejich kombinace odpovídá studované problematice. Výsledky a diskuse jsou rozděleny na dvě části podle témat obou publikací. Závěr shrnuje dosažené výsledky ze kterých je vidět, že zadání práce bylo jasně splněno.

Přehled dosažených výsledků jsme tu právě slyšeli. Aktuálnost témat, adekvátnost použitých metod řešení a hodnotu výsledků dokládá to, že byly již publikovány a prošly recenzním řízením v mezinárodních časopisech. Práce je napsána srozumitelně a přehledně.

Měl jsem možnost přečíst text práce ještě před konečnými úpravami předložené verze, takže drobné nepřesnosti a nedostatky v textu byly již vyřešeny a odstraněny.

Celkově hodnotím práci jako vynikající.

K textu mám jen dvě otázky které nijak nesnižují vysokou úroveň předkládané práce:

Ukazujete, že mutace Pro 732 a Asp 737 znemožňuje vazbu TNP-ATP a tím znemožňuje i stanovení vazby ATP. Mutace Lys 735 výrazně zhoršuje vazbu ATP ale ne TMP-ATP. Zajímavé je, že přesto na této mutaci přítomnost ATP zvyšuje vazbu FITC. Byla měřena i vazba FITC na mutacích Pro 732 a Asp 737 ? Nebylo by možné využít vazbu FITC ke kvantifikaci vazby ATP i na tyto varianty?

C- konec TRPV1 receptoru byl připravován jako fúzní protein s glutathion S-transferázou a thioredoxinem. Tyto proteiny nebylo možné odštěpit od studované molekuly pro její

malou rozpustnost. Nemohla přítomnost přídavných molekul ovlivnit výsledky měření např. cirkulárního dichroizmu nebo jiných metod?

Autorka jasně prokázala schopnost samostatné tvůrčí vědecké práce. Proto doporučuji tuto práci k obhajobě a doporučuji aby uchazečce byl udělen titul PhD.

RNDr. Jan Krůšek, CSc.

V Praze 20.1.2009