

# Ústav organické chemie a biochemie Akademie věd ČR

---

Doc. RNDr. Jan Konvalinka CSc.  
Skupina proteas lidských patogenů  
Flemingovo n. 2  
166 10 Praha 6

Telefon +220183 218  
fax +220183578  
e-mail konval@uochb.cas.cz

Posudek disertační práce Mgr. Veroniky Hlaváčkové "Metabotropic glutamate receptors: mechanism of activation"

Mgr. Hlaváčková předkládá disertační práci, vypracovanou pod vedením MUDr. Jaroslava Blahoše, PhD na 2. lékařské fakultě UK v Praze. Práce má 104 stran bez příloh a napočítal jsem v ní 48 většinou velmi hezky zpracovaných ilustrací. Její důležitou součástí jsou přílohy, obsahující dvě publikace disertantky publikované ve špičkových mezinárodních časopisech, a pak další publikace, které už disertantka považovala zřejmě za méně podstatné (dva souhrné články o dimerních GPCR a další publikace týkající se jiných témat). Z předkládaného autoreferátu i z database ISI (Web of Science) vyplývá, že V. Hlaváčková je spoluautorkou celkem 7 publikací, uveřejněných i v tak renomovaných časopisech jako je *EMBO J.* nebo *J. Biol. Chem.*, které byly přes velmi krátkou dobu od uveřejnění už více než 25krát citovány. Za nejvýznamnější z nich považuji publikaci Hlaváčková et al., *EMBO J.*, která sama o sobě shrnuje velkou část výsledků, uvedených v předkládané disertační práci. Je sympatické, že si pro účely disertační práce ze svých výsledků vybrala jen ty, které se týkají dobře definovaného tématu: mechanismu aktivace dimerních receptorů spřažených s G-proteinem. Za hlavní výsledek předkládané disertace považuji brilantní analýsu asymetrického přenosu signálu přes dimer heptahelikálních domén, kdy ke zprostředkování signálu stačí vždy jen jedna z domén. Metodicky mne velmi zaujal nápad s expresí chimérických receptorů mGlu1 receptorů s C1 a C2 sekvencemi GABA receptorů. V kombinaci se zhášením fluorescence umožňuje tento systém sledování exprese homodimerů mGlu receptorů na buněčné membráně.

Disertantka v předkládané práci prokazuje, že si velmi dobře osvojila mimořádně širokou škálu method od práce s rekombinantní DNA, klonování, mutagenese, exprese proteinů, tkáňové kultury atd. Je vidět, že práce byla provedena ve špičkové laboratoři napojené na síť prvotřídních mezinárodních kontaktů s využitím nejmodernějších metod

současné molekulární biologie. Současně potvrzuje schopnost disertantky racionálně experimenty analysovat a střízlivě zhodnotit jejich výsledky.

V práci jsem našel jen velmi málo věcných nebo formálních nedostatků. Jen se značným úsilím jsem objevil pár překlepů (např. na str. 53 Western, nikoli western blot, Petri dishes, nikoli petri dishes), občas chybí vysvětlení některé zkratky v Seznamu (např. FLASH-EDT na str. 57). Tyto drobné chyby uvádím jen jako důkaz toho, že jsem práci opravdu četl. K práci nemám žádných zásadných výhrad, jen jako podklad pro diskusi bych disertantce rád položil následující dotazy:

1/ řešení 3-D struktury transmembránových proteinů je mimořádně obtížným úkolem. Přesto se v poslední době objevily práce popisující rentgenovou strukturu tak složitých transmembránových struktur, jako je rhomboid -1 z *Drosophily* (membránový protein se šesti transmembránovými alfa-helixy). Je disertantce známo něco o pokroku v řešení 3D struktury glutamátových receptorů? Domnívá se sama, že vyřešení této struktury můžeme v blízké době očekávat?

2/ je známa část molekuly mGlu receptorů odpovědná za dimerisaci (dimerisační interface)? Může disertantka komentovat možnost, aby se dimerisace těchto receptorů stala cílem terapeutického zásahu (např. prostřednictvím látek vázajících se na dimerisační doménu)?

Na závěr s potěšením konstatuji, že předložená disertační práce je vynikající i podle nejpřísnějších mezinárodních měřítek, svrchovaně naplňuje požadavky příslušných zákonných ustanovení a plně ji proto doporučuji k obhajobě.

V Praze, 7.12.2006

Jan Konvalinka