

Podklady pro habilitační řízení - Nejvýznamnější práce uchazeče

RNDr. Viktorie Vlachová, DrSc.

1. Vlachova, V., J. Teisinger, K. Susankova, A. Lyfenko, R. Ettrich, and L. Vyklicky. 2003. Functional role of C-terminal cytoplasmic tail of rat vanilloid receptor 1. *Journal of Neuroscience* 23:1340-1350. (IF (2003)= 8.306) 146 citací dle Web of Science, 249 dle Google Scholar

Podíl uchazeče: Uchazečka navrhla projekt, vedla experimentální práce prováděné studenty (K.S. a A.L.), kteří jsou uvedeni jako spoluautoři, analyzovala data, koordinovala práce spojené s modelováním molekulární dynamiky (R.E.) a produkcí konstruktů (J.T.), napsala rukopis a byla jediným korespondujícím autorem.

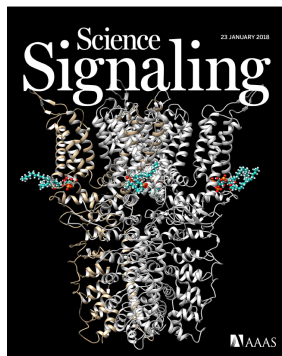
Zdůvodnění významnosti: Jedná se o první studii, ve které byla systematicky zkoumána funkční úloha cytoplazmatického karboxylového (C-) konce v teplotní aktivaci TRPV1 receptoru. Zjistili jsme, že zkrácení již o 31 aminokyselin statisticky významně pozměnilo charakteristiky teplotní aktivace iontového kanálu. Při zkrácení o 72 aminokyselin se práh pro aktivaci snížil z 41.5°C na 28.6°C; teplotní koeficient Q_{10} klesl z hodnoty 25.6 na 4.7. Tyto výsledky jako první naznačily důležitou modulární úlohu cytoplazmatického C-konce v teplotní aktivaci TRPV1 a byly o tři roky později podpořeny studií (Brauchi et al., 2006), která ukázala, že chimérická záměna C-konců mezi TRPV1 a TRPM8 obrací směr teplotní závislosti obou kanálů.

2. Zimova, L., V. Sinica, A. Kadkova, L. Vyklicka, V. Zima, I. Barvik, and V. Vlachova. 2018. Intracellular cavity of sensor domain controls allosteric gating of TRPA1 channel. *Science Signaling*. 11, 514. (IF (2021)= 9.579)

Podíl uchazeče: Uchazečka navrhla projekt, vedla experimentální práce prováděné studenty a postdoktorandy (L.Z., V.S., A.K., L.V.), kteří jsou uvedeni jako spoluautoři, analyzovala data, koordinovala práce s týmem I.B., napsala rukopis a byla jediným korespondujícím autorem.

Zdůvodnění významnosti: V rámci této práce byla poprvé systematicky popsána úloha vnitřní kavity senzorové domény TRPA1 receptoru v chemické a napěťové citlivosti. Postupná záměna polárních aminokyselinových zbytků ve vnitřní kavitě senzoru TRPA1 umožnila identifikaci reziduí zodpovědných za aktivaci kanálu depolarizačním napětím a elektrofilními látkami. Metodami molekulárního modelování jsme určili vazebné místo pro regulační fosfolipid PIP_2 lokalizované ve vnitřní kavitě senzoru. Pomocí společné exprese TRPA1 s proteiny specificky interagujícími s PIP_2 se nám podařilo funkčně ověřit předpokládanou úlohu tohoto predikovaného místa. Naše experimenty navíc odhalily, že konzervovaná záporně nabitá rezidua ve vnitřní kavitě senzoru (E788 a E808) mohou být také klíčovým interakčním místem, ze kterého je aktivita kanálu regulována vápenatými ionty, jež jsou nejdůležitějším fyziologickým modulátorem TRPA1. Tyto nálezy vedly k návrhu funkčního modelu převodu chemických a napěťových signálů z vnitřní kavity senzoru do vrátkovací

oblasti póru. O dva roky později byla publikována struktura TRPA1, která v souladu s naší hypotézou prokázala v oblasti hydratované kavity vazbu vápenatých iontů.



Význam výsledků této studie ocenila redakce výběrem obrázku z publikace na titulní stranu čísla 514 časopisu *Science Signaling*.

3. Nadezhdin, K.D., A. Neuberger, Y.A. Trofimov, N.A. Krylov, V. Sinica, N. Kupko, V. Vlachova, E. Zakharian, R.G. Efremov, and A.I. Sobolevsky. 2021. Structural mechanism of heat-induced opening of a temperature-sensitive TRP channel. *Nature Structural & Molecular Biology*. 28:564-572. (IF (2021)= 18.361)

Podíl uchazeče: Uchazečka navrhla a vedla experimentální práce prováděné studentem (V.S.), analyzovala data, intelektově přispěla ke studii a podílela se na sepsání rukopisu. Spolupráce s týmem prof. Alexandra Sobolevského z Kolumbijské univerzity (New York, USA) byla iniciována v rámci tematické návaznosti předcházející studie o TRPV3 publikované týmem uchazečky (Macikova et al., 2019, *International Journal of Molecular Sciences*. 20, 16).

Zdůvodnění významnosti: V této studii se podařilo poprvé popsat kryoelektronovou mikroskopií strukturu přirozeného typu TRP kanálu otevřeného teplem. Struktura myšního TRPV3 kanálu aktivovaného teplem v rozlišení až 2 Å byla získána pomocí fyziologicky relevantního teplotního protokolu (opakované aplikace teplotních skoků z 25°C na 42-48°C). Skutečnost, že plně otevřeného stavu bylo dosaženo jen v případě TRPV3 kanálů rekonstituovaných v určitém typu nanodisků (cNW11, nikoliv MSP2N2), svědčí o důležité úloze složení lipidů v membráně při teplotní aktivaci.



Naše výsledky tak přispěly k průlomové studii, která odhalila sérii konformačních změn myšního TRPV3, ke kterým dochází působením tepla (42°C). Naše paralelní komplementární simulace molekulární dynamiky TRPV3 (Macikova et al, 2019) odhalily místa největší flexibility kanálu při zvýšení teploty o 30 K, a potvrdily tak hypotézu o strukturních změnách, které doprovázejí proces senzitivace receptoru při aktivaci teplem, nebo jsou přímo příčinou teplotní senzitivace.

Významný přínos této studie spolu s článkem Kwon et al. (str. 554–563) ocenila redakce zveřejněním ilustrace na titulní straně uvedeného čísla časopisu.