

Posudek oponenta bakalářské práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: **Kristýna Barvíková**

Název práce: **Studium teplotní citlivosti lidského TRPA1 kanálu**

A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce (označte právě jednu z možností)

1. Rozsah BP a její členění	
X	A - přiměřené, odpovídají charakteru BP a významu jednotlivých částí
	B - nevyrovnané, členění není logické n. rozsah jednotlivých částí nekoresponduje s jejich významem
	C - uspokojivé, rozsah některých částí nedostačuje
	N - nedostatečné

2. Odborná správnost	
X	A - výborná, bez závažnějších připomínek
	B - velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (nejasnost výkladu, chyby ve vzorcích nebo chemických názvech, nedokonalý popis metod nebo výsledků)
	C - uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami
	N - nevyhovující, s hrubými chybami

3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů	
X	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
	B - uspokojivé, s občasnými neobratnostmi zejm. v umístění odkazů, nebo s celkově nižším počtem citací
	C - s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, přednášky, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat
	N - nevyhovující, velmi málo citací, ev. rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu)

4. Jazyk práce	
X	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
	B - velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby
	C - uspokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické n. pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné n. nejednoznačné formulace
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

5. Formální a grafická úroveň práce	
	A - výborná, bez překlepů a chyb ve formátování
X	B - velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky apod.
	C - uspokojivá, s ojedinělými většími (např. vynechání stránky) nebo četnějšími drobnými chybami
	N - nevyhovující, s četnými hrubými chybami

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5. :

Bakalářská práce Kristýny Barvíkové má členění i rozsah obvyklý pro práce obdobného charakteru a je vypracována velmi pečlivě s opravdu minimem překlepů a stylistických neobratností. K práci mám nicméně několik drobných poznámek a doporučení.

V kapitole materiál a metody občas chybí uvedení zdroje použitého materiálu (primery, endonukleasa DpnI, gel pilot loading dye)

V případě enzymových preparátů jako je *Pfu* polymerasa či endonukleasa DpnI bych doporučila uvádět kromě objemu i aktivitu.

U metody SDS-PAGE bych rozepsala složení gelu a pufrů

Autorka se někdy nevyhnula použití zbytečných anglických výrazů jako elution buffer ELU, washing buffer WASH, které by šlo snadno nahradit českými ekvivalenty.

Ve výsledkové části by mi přišlo vhodnější sjednotit u grafů rozsah os tak, aby bylo na první pohled patrné, že se naměřené veličiny liší a u osy v grafu 10F doplnit, že se jedná o logaritmické měřítko.

Další případné nejasnosti jsem s uchazečkou osobně probrala na konzultaci, při které studentka prokázala přehled a znalosti týkající se tématu předkládané bakalářské práce a jejích výsledků.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

1. V práci uvádíte, že mnohé elektrofilní aktivátory TRPA1 kanálu, jako např. allylisothiokyanát, jsou schopny reagovat s thiolovými skupinami cysteinových zbytků, přičemž dochází ke kovalentní modifikaci proteinu. Jakým způsobem dochází k uvolnění těchto látek z receptoru, aby mohlo dojít k opětovné deaktivaci?
2. Při metodě *patch-clamp* v uspořádání *whole-cell* byly buňky exprimující přirozený typ TRPA1 či protein se záměnou Y726F rozpoznávány pomocí pozitivní exprese GFP. Jste si jistá, že vždy došlo k současné transfekci buňky oběma plasmidy nebo může dojít i k situaci, kdy buňka sice nese gen pro GFP, ale již ne pro TRPA1 kanál? Mají HEK293T buňky své vlastní přirozené TRP kanály, které by ovlivňovaly vaše měření?
3. Co je vrátkovací náboj a jakým způsobem byla stanovena jeho hodnota? A proč je v diskuzi nazýván jako jednotkový náboj?
4. V diskuzi se zabýváte možností, že menší proudové odpovědi mutantní verze TRPA1 Y726F by mohly být způsobeny rozdílnou povrchovou expresí přirozené a mutantní verze TRPA1 kanálu (celková míra exprese je shodná). Máte nějaký návrh jak stanovit pouze množství receptoru inkorporovaného v membráně? Existuje nějaké uspořádání elektrofyziologické metody *patch-clamp*, které by toto odhalilo nebo které by mohlo měřit i odezvu jediného kanálu a ne všech kanálů v buňce jako je tomu při *whole-cell* uspořádání?

Stanovisko k opravě chyb v práci:

opravný lístek/oprava v textu **JE** / **NENI** (zakroužkujte) podmínkou přijetí práce

C. Celkový návrh

Práci **doporučuji** k přijetí k dalšímu řízení: **ANO** / **NE**

Navrhovaná celková klasifikace: **výborně**

Datum vypracování posudku: 5. 6. 2018

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS): RNDr. Věra Černá, Ph.D.