

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: **Bc. Jana Vašková**

Název práce: **Funkční úloha cytoplazmatických konců ankyrinového receptoru TRPA1**

Jméno a příjmení oponenta (včetně titulů): **RNDr. Hana Zemková, CSc.**

A. Bodové hodnocení jednotlivých aspektů práce (označit křížkem **jednu** z možností - pomocí dojkliknutí levým tlačítkem myši na šedivě podbarvené pole a výběrem hodnoty "zaškrtnuto")

1. Rozsah práce a její členění

A	přiměřené, odpovídají charakteru DP a významu jednotlivých částí	<input checked="" type="checkbox"/>
B	nevyrovnané, členění nelogické nebo rozsah některých částí nekoresponduje s jejich významem	<input type="checkbox"/>
C	uspokojivé, rozsah některých částí nedostačující	<input type="checkbox"/>
N	nedostatečné	<input type="checkbox"/>

2. Odborná správnost

A	výborná, bez závažnějších připomínek	<input checked="" type="checkbox"/>
B	velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (např. nejasnost výkladu, chyby v terminologii, nedokonalý popis metod nebo výsledků)	<input type="checkbox"/>
C	uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami	<input type="checkbox"/>
N	nevyhovující, s hrubými chybami	<input type="checkbox"/>

3. Uvedení použitých literárních a jiných zdrojů

A	adekvátní, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce	<input checked="" type="checkbox"/>
B	uspokojivé, s občasnými neobratnostmi (zejm. v umístění odkazů) nebo s celkově nižším počtem citací	<input type="checkbox"/>
C	s vážnějšími závadami, např. převažují "nestandardní" odkazy na učebnice, webové stránky, nebo se ojediněle vyskytuje opominutí odkazu na zdroj převzatých dat	<input type="checkbox"/>
N	nevyhovující, velmi málo citací, eventuálně rysy plagiátu (časté opomíjení odkazu na zdroj převzatých dat, popř. opsání velkých částí textu) nebo používání neadekvátních citací	<input type="checkbox"/>

4. Jazyk práce

A	výborný, práce napsaná čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických nebo pravopisných chyb	<input checked="" type="checkbox"/>
B	velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby	<input type="checkbox"/>
C	uspokojivý, četnější slohové neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby, ojediněle se vyskytují obtížně srozumitelné nebo nejednoznačné formulace	<input type="checkbox"/>
N	nevyhovující, s četnými hrubými chybami	<input type="checkbox"/>

5. Formální a grafická úroveň práce

A	výborná, bez překlepů a chyb ve formátování	<input checked="" type="checkbox"/>
B	velmi dobrá, ojedinělé chyby formátu citací, překlepy, chybějící zkratky, apod.	<input type="checkbox"/>
C	uspokojivá, s ojedinělými většími nedostatky (např. vynechání stránky, uvádění obrázků grafů nebo tabulek bez odkazů v textu) nebo s čtenějšími drobnými chybami	<input type="checkbox"/>
N	nevyhovující, s četnými hrubými chybami	<input type="checkbox"/>

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5.:

Autorka se ve své diplomové práci zabývala funkcí aminového a karboxylového konce lidského ankyrinového TRPA1 receptoru, který hraje roli ve vnímání bolesti. Podařilo se jí funkčně charakterizovat vytipované kritické aminokyselinové zbytky, které jsou součástí T/SPLH motivů v důležitých oblastech receptoru. Pomocí elektrofyzilogických a molekulárně biologických metod a použitím tří experimentálních protokolů (stimulace napětovými pulsy, isothiokyanátem nebo cinnamaldehydem) zjistila, jaký vliv má záměna aninokyselin S448, H244, S344, T673, S616 a odstranění posledních 20 aminokyselin C-konce na velikost membránových proudů a na citlivost k extracelulárnímu vápníku. Nalezla, že HEK293 buňky tranfekované mutací S448T mají oproti divokému typu TRPA1 receptoru nižší odpovědi na isothiokyanát, mutace H244R má velmi nízké odpovědi na cinnamaldehyd, mutace S344D je téměř nefunkční a že treonin na pozici 673 a serin v pozici 616 představují potenciální místo pro fosforylaci, a že distální C-konec se podílí na stavově závislé napěťové regulaci TRPA1 receptoru. V diskusi autorka vysvětluje své výsledky s výborným porozuměním dané problematiky. Výsledky této práce přinášejí nové poznatky o vztahu mezi strukturou a funkcí TRPA1 receptoru.

Předkládaná práce má svým stylem psaní vysokou úroveň, má jasně stanovené cíle, detailně popsanou metodikou, výsledky a kvalifikovanou diskusi. Práce má 18 stran úvodu, 7 stran metod, 17 stran výsledků a 5 stran diskuse se závěry, celkem s literaturou má 63 stran. Svojí kvalitou a rozsahem vyhovuje nárokům na diplomovou práci.

Drobné poznámky:

str.7, zkratka "ANKTM1": z vysvětlení zkratky ani z textu není zcela jasné, zda se zkratka používá pro první transmembránovou doménu receptoru TRPA1 nebo pro celý receptor TRPA1

str. 10, ř. 3: místo „... nervových i non-neurálních buňkách“ by lépe bylo „ neuronálních i non-neurálních buňkách“

str.13, ř. 15: při prvním uvedení zkratky ANKTM1 v textu by měl být vysvětlen její význam

str.14, 2. odstavec: zkratky PLC a PKC jsou vysvětleny dvakrát na téže stránce

str. 25, ř.12: chybí informace o látce AP-18, která je zmíněna poprvé a naposledy v tomto odstavci.

str.40, Obr. 12A: Chybí popis šedé čáry v textu k obrázku.

str. 42, ř.13: Autorka píše: „*V průběhu aplikace depolarizačního napětí mutant (H244R) nevykazoval vyšší proudovou aktivitu než divoký typ (WT) TRPA1 (obr. 13)*“. Ale obr 13 ukazuje výrazně nižší amplitudy proudu mutantu ve srovnání s divokým typem.

str. 57, ř. 11 zdola: Co autorka míní slovem „prurita“?

B. Obhajoba - dotazy k obhajobě

1} Jakým mechanismem mohou Ca²⁺ ionty aktivovat PLC? Existují důkazy o tom, že inhibice PLC blokuje heterologní desensitizaci TRPA1 receptoru zprostředkovanou Ca²⁺ ionty ?

2) Autorka se ve své práci (např. na straně 26, ř.1) zmiňuje o inaktivaci jako o desensitizaci, přičemž u jiných ligandem aktivovaných receptorů, jsou to dva různé procesy a desensitizace je definována jako inaktivace v dlouhodobé přítomnosti ligandu. Nelze najít obdobný rozdíl také u TRPA1 receptoru?

3) Na obrázku 15D je vidět, že odpověď na napěťové pulsy dávaly také nenatransfekované HEK buňky. Byly tyto odpovědi odečteny od agonisty-stimulovaných odpovědí, a pokud ne, mohl tento odečet změnit výsledky některých pokusů?

Stanovisko k opravě chyb v práci

– opravný listek/oprava v textu ~~JE~~ / **NENÍ** podmínkou přijetí práce (nehodící se škrtněte)

C. Celkový návrh

Práci **doporučuji** k přijetí k dalšímu řízení: **ANO** / ~~NE~~ (nehodící se škrtněte)

Navrhovaná celková klasifikace (ve standardní stupnici 1 až 4): **1**

Datum vypracování posudku: 25.5.2015

Podpis oponenta: