

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky : Alexandra Rejhová

Název práce: Studium membránových receptorů pomocí vazby radioligandů

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

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

2. Odborná správnost	
	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)
X	C - uspokojivá, s četnějšími drobnými závadami
	N - nevyhovující, s hrubými chybami

3. Uvedení použitých literárních a j. zdrojů	
	A - bez připomínek, všechny převzaté údaje s citací zdroje, celkový počet citací odpovídá charakteru práce
X	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	
	A - výborný, práce je napsána čtivě a srozumitelně, bez závažnějších gramatických n. pravopisných chyb
X	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. :

Autorka se na čtrnácti stranách literárního přehledu snaží shrnout poznatky o molekulární struktuře membrán, obecně o receptorech, receptorech spřažených s G-proteiny, opioidních receptorech, G-proteinech, adenylylcyklase, Na,K-ATPase a metodě vazebných studií s radioligandy.

Vzhledem k takto široce pojatému literárnímu přehledu většina kapitol obsahuje pouze obecné informace.

Formulaci cílů práce by podle mého názoru měl předcházet alespoň krátký text týkající se informací, které jsou o problematice známé. Též bych uvítala přesnější a konkrétnější formulaci cílů práce a jejich upřesňujících textů.

Jednotlivé metodické postupy jsou popsány velmi podrobně z hlediska provedení. Nicméně postup přípravy jednotlivých frakcí percollového gradientu z buněk DOR-Gi se nedozvíme. Stáří, velikost a pohlaví potkanů nejsou popsány. Autorka používala v experimentech různé připravené biologické vzorky (homogenát z mozkové kůry potkanů, frakce percollového gradientu, frakci percollového gradientu obohacenou plasmatickými membránami, frakci plasmatických membrán koncentrovaných sacharosovým flotačním gradientem). Nebylo vždy zcela zřejmé, jak přesně byl připraven použitý vzorek.

Hlavním nedostatkem experimentální části práce považuji neuvedení počtu pokusů. V textu se průběžně objevují informace o tom, kolikrát byl daný vzorek v jednom experimentu stanoven, ale celkový počet pokusů nikoliv. Také postrádám statistickou analýzu signifikance výsledků při hodnocení výsledků čtvrtého cíle.

B. Obhajoba

Dotazy k obhajobě

1. Jedním z cílů práce bylo optimalizovat stanovení ouabainové vazby ve frakcích flotačního sacharosového gradientu. Ke splnění tohoto cíle jste použila metodu vazebných pokusů s radioligandem v tzv. uspořádání „one-point assay“. Jedná se o sledování vazby radioligandu v jeho jedné koncentraci. Jakou koncentraci [³H]ouabainu jste použila? Mohla byste doplnit, proč podle Vašeho názoru nedosahuje součet vazebných míst [³H]ouabainu v jednotlivých frakcích gradientu obsahu vazebných míst ve vzorku nanášeném na gradient?
2. Plasmatické membrány, které jste koncentrovala na percollovém gradientu, jste dále purifikovala na sacharosovém flotačním gradientu. Ve frakci č. 3 sacharosového gradientu popisujete přítomnost plasmatických membrán. Při pohledu na obr. č. 6 (str. 30) je zřejmé, že frakce č. 3 obsahuje dvě poměrně dobře oddělené vrstvy. Je známo složení obou vrstev?
3. Za velmi zajímavý považuji výsledek experimentů se stimulací vazby [³⁵S]GTPγS agonistou δ opioidních receptorů DADLE a agonistou prostaglandinových receptorů PGE1. Autorka prokázala vzájemnou potenciaci stimulace vazby [³⁵S]GTPγS těmito agonisty. Mohla byste prosím vysvětlit, proč jste použila koncentraci agonistů 10⁻⁵M. Podle mého názoru je předčasné vyvozovat, že tento jev je způsoben dlouhodobým působením morfia. Rozdíl v potenciaci vazby [³⁵S]GTPγS u kontrolních a morfiem ovlivněných zvířat je příliš malý. Bohužel tyto výsledky nejsou statisticky zhodnoceny.

Stanovisko k opravě chyb v práci:

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

C. Celkový návrh

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

Navrhovaná celková klasifikace: dobře

Datum vypracování posudku: 24.5.2011

Jméno a příjmení, podpis oponenta (SIS):

RNDr. Lucie Hejnová, Ph.D.