

## Posudek oponenta na diplomovou práci

|   |  |
|---|--|
| X oponentský posudek  | Jméno posuzovatele: RNDr. Jan Krůšek, CSc. |
|   | Datum: 12.9.2011                           |
| Autor: Bc. Lucia Motlová  |  |
| Název práce: Adenylát-cyklázový toxin bakterie <i>Bordetella pertussis</i> , jeho konformace a iontová rovnováha v hostitelské buňce  |  |
| <b>Cíle práce</b><br>Studium vstupu sodných iontů do buněk prostřednictvím adenylát-cyklázového proteinu pomocí fluorescenčních sond.<br>Studium oligomerizace adenylát-cyklázového toxinu v roztoku a fosfolipidových membránách pomocí metody FRET.<br>Studium interakce dvou molekul tryptofanu v molekule adenylát-cyklázového toxinu   |  |
| <b>Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému?</b> ANO<br>Rozsah práce (počet stran): 92<br>Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova, ANO<br>Je uveden seznam zkratk? ANO  |  |
| <b>Literární přehled:</b><br>Odpovídá tématu? ANO<br>Je napsán srozumitelně? ANO<br>Použila autorka v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? ANO<br>Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? ANO   |  |
| <b>Materiál a metody:</b><br>Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO<br>Kolik metod bylo použito? 6 základních + asi 10 pomocných<br><br>Jsou metody srozumitelně popsány? ANO   |  |
| <b>Experimentální část:</b><br>Je vysvětlen cíl experimentů? ANO<br>Je dokumentace výsledků dostačující? ANO<br>Postačuje množství experimentů k získání odpovědi na zadané otázky?<br>ANO<br>Přestože bylo provedeno velké množství experimentů, detekce změn koncentrace sodných iontů nebyla úspěšná. Další experimenty by pravděpodobně nevedly k lepším výsledkům, protože detekce změn sodných iontů je v porovnání například s měřením vápenatých kationtů velmi obtížná úloha, která se zdařila jen ve velmi málo případech. (očekávané změny koncentrace sodíku jsou jen velmi malé a použité fluorescenční sondy vstupují do živých buněk jen velmi obtížně). |  |

|  |
|--|
|  |
| <p><b>Diskuze:</b><br/>         Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO<br/>         Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO<br/>         Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO</p>   |
| <p><b>Závěry (Souhrn) :</b><br/>         Jsou výstižné? ANO</p>  |
| <p><b>Formální úroveň práce</b> (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):<br/>         Obrazová dokumentace je na velmi vysoké úrovni (grafy, vzorce, obrázky)<br/>         Text je napsán pečlivě s minimálním počtem překlepů a chyb.</p>  |
| <p><b>Splnění cílů práce a celkové hodnocení:</b><br/>         Cíle první části práce se nepodařilo splnit, přestože byly použity nejdokonalejší současné metody. Experimentální úkol byl velmi obtížný.<br/>         Cíle druhé části práce byly splněny.<br/>         Byly využity nejmodernější metody fluorescenční spektroskopie. Technické zvládnutí experimentů vyžadovalo mimořádné úsilí a pečlivost.</p>   |
| <p><b>Otázky a připomínky oponenta:</b></p> <p>Schéma na str. 19 ukazuje, že rovnovážný potenciál pro draselné a chloridové ionty je velmi blízký. Je něco známo o hodnotě klidového membránového potenciálu a chloridové propustnosti cílových buněk pro působení studovaného toxinu?<br/>         V kapitole věnované oligomerizaci toxinu v lipozomech ze sojových lipidů jste pozorovali, že při kombinaci donoru s akceptorem docházelo paradoxně k prodlužování doby života fluorescence. Doba života donoru se přidáním toxinu s akceptorem přiblížila delší hodnotě, která byla pozorována v samotném pufru. Není možné, že by přidání dalších molekul toxinu vedlo k oslabení interakce donoru s membránou a vystavení donoru do roztoku? Není možné, že by značení toxinu fluorofory přímo ovlivňovalo interakci toxinu s membránou, nebo jeho případnou oligomerizaci? Byla testována funkčnost značených forem toxinu?</p> |
| <p>Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)</p> <p>X výborně <input type="checkbox"/> velmi dobře <input type="checkbox"/> dobře <input type="checkbox"/> nevyhověl(a)</p>   |
| <p>Podpis oponenta:</p>  |