

## Posudek oponenta na diplomovou práci

oponentský posudek

Jméno posuzovatele: Mgr. Martin Horák, Ph.D.

Datum: 22.5.2013

Autor: Bc. Eliška Doktorová

Název práce: Vliv vápenatých iontů a cholesterolu na kanálotvornou aktivitu Adenylát-cyklázového toxinu.

### Cíle práce (převzato z kapitoly 6):

Prvním cílem této práce bylo zjistit, zda a případně jak ovlivňuje cholesterol aktivitu a iontovou selektivitu kanálů CyaA.

Druhým cílem bylo zjistit, zda má velikost elektrického napětí vliv na aktivitu CyaA kanálů.

Třetím cílem bylo zjistit, jak velké jsou kanály tvořené CyaA.

Čtvrtým cílem bylo zjistit, zda vápenaté ionty prochází kanálem CyaA.

### Struktura (členění) práce, odpovídá požadovanému? ANO

Rozsah práce (počet stran): 73

Je uveden anglický abstrakt a klíčová slova? ANO

Je uveden seznam zkratk? ANO

### Literární přehled:

Odpovídá tématu? ANO

Je napsán srozumitelně? ANO

Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? Většinou ANO

Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? Většinou ANO

Některé odstavce nemají relevantní citaci. Například na straně 25 chybí v prvním odstavci kapitoly 2.6. o iontových kanálech citace.

Citace v této sekci jsou většinou zastaralé, chybí více nových studií z let 2011-2013.

### Materiál a metody:

Odpovídají použité metody experimentální kapitole? ANO

Kolik metod bylo použito? 10

Str. 36 – “Osobně jsem se účastnila kroků: 3.6.5-3.6.9.“ Znamená to, že se autorka neúčastnila vlastního měření a analýzy elektrofyziologických dat popsanych v sekci 3.6.10?

Doporučoval bych přidat do této sekce ukázkou SDS-PAGE gelu s purifikovaným toxinem, dokládajícím jeho čistotu.

Jsou metody srozumitelně popsány? ANO

**Experimentální část:**

Je vysvětlen cíl experimentů? ANO

Je dokumentace výsledků dostačující? Většinou NE - v čem jsou nedostatky?

Postačuje množství experimentů k získání odpovědí na zadané otázky?

Většinou NE – co chybí, v čem je nedostačující?

Není jasně popsáno, z kolika nezávislých měření byly jednotlivé výsledky získány. Rovněž chybí dostatečné statistické zpracování dat.

Není zřejmé, jakým způsobem byly získány hodnoty vodivosti uvedené v Obr. 15 a 16, neboť hladina otevření kanálu (např. v Obr. 14) se výrazně mění v průběhu otevření. Byla stanovena průměrná hodnota pro každé jednotlivé otevření kanálu nebo se počítalo s každým naměřeným bodem?

Proč je rozdílná velikost šumu v zavřeném stavu pozorovaná během snímání velkého a malého kanálu (Obr. 14)?

V Tab. 3 je ukázáno nedostatečné množství získaných dat (minimálně u vyššího napětí, kde je to technicky možné), což znemožňuje interpretaci dat a neumožňuje odpovědět na danou otázku.

**Diskuze:**

Je opravdu diskuzí, nejde jen o konstatování vlastních výsledků? ANO

Jsou výsledky porovnávány s literaturou? ANO

Jsou uvedeny nějaké hypotézy či návrhy na další řešení problematiky? ANO

**Závěry (Souhrn) :**

Jsou výstižné? Většinou ANO

**Formální úroveň práce** (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Obrázky v dostatečném množství a kvalitě vysvětlují danou problematiku.

Jazyková úroveň práce je průměrná, anglický abstrakt by bylo dobré přeformulovat do “vědecké angličtiny“ a zbavit překlepů.

Seznam literatury (kapitola 7) obsahuje neúplné informace, což znesnadňuje nalezení citovaných prací v příslušných databázích. Např.:

Masin, Jiri et al. 2005. “Acylation of Lysine 860 Allows Tight Binding and Cytotoxicity of Bordetella.” 12759–12766.

Pospíšilová, Eva. 2010. “Adenylát cyklázový toxin bakterie Bordetella pertussis : mechanismus úniku draselných iontů z makrofágů.”

Fišer, Radovan. 2003. “Adenylátcyklázový toxin bakterie Bordetella pertussis a jeho interakce s biologickou membránou.”

**Splnění cílů práce a celkové hodnocení:**

V práci je prezentováno relativně málo kvalitních výsledků. Dle mého názoru by diplomové práci prospělo, kdyby se autorka v experimentální části soustředila raději na jednu konkrétní otázku, než odpovídala na čtyři otázky najednou. Cíle práce nebyly povětšinou splněny prezentováním dostatečného množství výsledků pro každou položenou experimentální otázku. Je ale evidentní, že diplomová práce obsahuje část kvalitně provedených pokusů, takže je možné vyvodit, že se autorka naučila experimentální práci a analýze dat během magisterského studia. Vzhledem k uvedeným připomínkám navrhuji hodnocení dobré a nechám na zvážení komisi, zda-li je nezbytné, aby autorka diplomovou práci před jejím schválením přepracovala dle uvedených bodů.

### **Otázky a připomínky oponenta:**

Str. 24: „póry tvořené CyaA jsou kation-selektivní s lehkou preferencí pro vápenaté ionty“  
Znamená to, že čtvrtým cílem, kterým bylo zjistit, zda vápenaté ionty prochází kanálem CyaA (kapitola 6), bylo víceméně opakovat předchozí výsledky?

Graf v Obr. 10 a 17 vypadá identicky, doporučoval bych jednu kopii vymazat.

V pokusu na str.60 byl použit acetát. Jak byl zařízen solný můstek?

Úvaha o různém množství procházejících iontů podle relativní propustnosti je nepřesná, protože závisí na předpokladu úplné nezávislosti průchodu různých iontů, což často neplatí.

Nebylo by vhodnější použít k měření velikosti kanálů různě velké organické kationty?

Plánujete měřit do budoucna vodivost kanálů v přítomnosti fyziologických koncentrací iontů?

Str. 55 - tvrzení, že není souvislost mezi hodnotou el. napětí a dobou, kdy se molekula zabudovala do membrány, je ihned popřeno následujícím odstavcem, který říká, že při nízkém napětí se CyaA do membrány takřka nezabudovává.

Příklady překlepů a jazykové připomínky:

Str. 24 – cytoplazmaticou

Str. 50 – Nás zajímalo..., nebylo možno vzít

anglický abstrakt (15.řádek) – required

zkratky - DEAE\_diethylaminoethyl  
PAGE\_polyagrylamidovém

calmodulin x kalmodulin (nejednotný styl)

azolektin x asolektin (nejednotný styl)

Str. 14 - periplamatickém

Návrh hodnocení oponenta (známka nebude součástí zveřejněných informací)

výborně  velmi dobře  dobře  nevyhověl(a)

Podpis oponenta: