

Posudek oponenta diplomové práce

Jméno a příjmení uchazeče/ky: **Bc. Viktor Synytsya**

Název práce: **Úloha reaktivních cysteinů v aktivaci lidského TRPA1 iontového kanálu**

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	X
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	X
B	velmi dobrá, s ojedinělými drobnými závadami (např. nejasnost výkladu, chyby v terminologii, nedokonalý popis metod nebo výsledků)	<input type="checkbox"/>
C	uspokojivá, s čtenějšími 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	X
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	X
B	velmi dobrý, ojedinělé stylistické neobratnosti, gramatické nebo pravopisné chyby	<input type="checkbox"/>
C	uspokojivý, čtenější 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	X
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 četnějšími drobnými chybami	<input type="checkbox"/>
N	nevyhovující, s četnými hrubými chybami	<input type="checkbox"/>

Případný slovní komentář k bodům 1. až 5.:

Autor se ve své diplomové práci zabýval úlohou šesti cysteinových reziduí v transmembránové oblasti lidského TRPA1 receptoru, který hraje roli ve vnímání bolesti. Pomocí elektrofyziologických a molekulárně biologických metod se mu podařilo zjistit, že každý ze studovaných cysteinů se různou měrou podílí na struktuře receptorového proteinu, která určuje jeho schopnost aktivace a inaktivace, citlivost k depolarizujícím napětím nebo extracelulárnímu vápníku. Žádný ze studovaných cysteinů se přitom přímo neúčastní kovalentní vazby elektrofilních substancí jako je skořicový aldehyd a allylisothiokyanát, které TRPA1 receptor specificky aktivují. Dále byla studována cysteinová dvojmutace vybraných nabitých reziduí ve čtvrté a páté transmembránové doméně, která posloužila k ověření blízkosti a možné přímé interakce mezi těmito aminokyselinami ze dvou různých částí receptoru. Výsledky této práce přinášejí nové poznatky o vztahu mezi strukturou a funkcí lidského TRPA1 receptoru.

Předkládaná práce má vysokou úroveň, podrobný literární přehled, má jasně stanovené cíle, detailně popsanou metodiku, originální výsledky a kvalifikovanou diskuzi. Práce má 28 stran úvodu, 11 stran metod, 19 stran výsledků a 8 stran diskuse se závěry, a celkem 77 citací v seznamu použité literatury. Svoji kvalitou a rozsahem vyhovuje nárokům na diplomovou práci.

Drobné poznámky:

Str.6: chybí poslední řádek, tj. název kapitoly 7.2., která začíná na str. 45

Str. 15, ř. 9 zdola: uveden termín "β –vlákny". V práci se ale vyskytuje několik podobných výrazů, např. v textu k Obr. 3 je termín „β –skládaný list“ a na str. 16, řádek 7 "β –otáčka". Není jasné, zda jde vždy o termín se stejným významem.

Str.17, ř. 7 zdola: uvedeny cysteiny C193 a C462, ale Obr. 4 uvádí C192 a C461 u téhož receptoru

Str. 20, ř.11 zdola: má být „C-konec“

Materiál a metody: zatímco u chemikálií a biologického materiálu jsou uváděny firmy a země původu, u přístrojů země původu uvedeny nejsou. Chybí zmínka a specifikace analogově-digitálního převodníku pro elektrofyziologická měření

Str. 32, ř.5: má být „EDTA“

B. Obhajoba - dotazy k obhajobě

1. Autor předpokládá, že by nemělo smysl použít látek jako jsou methanthiosulfonáty k určení funkce cysteinů, protože endogenních cysteinů je v TRPA1 receptoru hodně a interpretace účinku těchto látek by nebyla jednoznačná. Třeba by ale bylo možné rozbít a tím dokázat SS vazbu u dvojmutace E854C/K868C pomocí dithiothreitolu, silného redukčního činidla. Co je známo o účinku dithiothreitolu na TRPA1 receptor? Byla tato látka u dvojmutace testována?
2. Výsledky na straně 43- 45 zmiňují závislost inaktivace TRPA1 odpovědí na osmolalitě aplikovaných roztoků. Také některé endogenní kanály HEK buněk by teoreticky mohly být aktivovány malými změnami osmolality (5-20 mOsm). Lze tuto možnost vyloučit? Pokud ne, jaké kanály jsou citlivé na osmolalitu extracelulárního roztoku?

3. V poslední větě diskuse je zmíněna možnost, že pozorovaný účinek extracelulárního vápníku na inaktivaci TRPA1 receptoru by mohl souviset se schopností receptoru zvětšovat pór svého iontového kanálu. Jak velké změny by se daly očekávat a jak dynamický by mohl být tento proces?

Stanovisko k opravě chyb v práci

– opravný lístek/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: 20.5.2016

Podpis oponenta: