



Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra chemie



Hodnocení bakalářské práce

Posudek oponenta



Jméno autora: Pavlína Fiandová

Rok obhajoby: 2019



Název práce: Příprava mutatiní formy komáří acetylcholinesterázy

Vedoucí práce: Mgr. Monika Schmidt, Ph.D.

Oponent práce: doc. RNDr. Lucie Zemanová, Ph.D.



Téma práce: aktuální

Téma bylo v literatuře: diskutuje se o něm



Zaměření práce: původní vědecká práce

Práce je zaměřena: empiricky

Jazyková a stylistická úroveň práce: odpovídá

Rozsah práce: přiměřený

Použitá literatura: aktuální

Počet uváděných titulů: dostatečný

Citace v textu: přiměřená

Statistické zpracování výsledků: nebylo v náplni práce

Formální stránka práce: odpovídá

Využitelnost pro praxi: střední

Cíl práce: splněn

Úroveň práce: odpovídá požadavkům

Konkrétní náměty, připomínky nebo otázky vyžadující doplnění u obhajoby:

Předložená práce je experimentální práce, která se zabývá přípravou mutatiní formy komáří acetylcholinestrázy, což je oblast týkající se tématu rezistence komárů *Anopheles gambiae* na insekticidy. Vzhledem k tomu, že tito komáři přenášejí prvoky *Plasmodium*, původce malárie, jde o téma vysoce aktuální a závažné. Bakalářská práce je vhodné délky, klasicky členěná na literární přehled, experimentální část, výsledky a diskuse.

Autorka se v teoretické části vcelku obšírně zabývá malárií, cílovým enzymem a rekombinantními proteiny. Vzhledem k tomu, že jde o práci z oblasti molekulární biologie, ocenila bych teorii více zaměřenou na přípravu rekombinantních proteinů a teorií mi zcela chybí část o cílené mutagenезi, která je přitom hlavním tématem práce. Experimentální část obsahuje poměrně pečlivě popsané experimenty, nicméně do

experimentální části nepatří vysvětlování (např. sekce 4.2.1). Ve výsledkové části je řada obrázků a tabulek, které ilustrují získané výsledky. Diskuse obsahuje rysy diskuse, je zde uvedeno několik odkazů na již existující studie, ale působí poměrně nehomogenním dojmem. Podobně jako celá práce není ze stylistického hlediska zcela bez chyb, působí poměrně "neučesaně", obsahuje mnoho vyjádření, která jsou nepřesná nebo by se o jejich významu dalo polemizovat (např. str. 19 "...je zodpovědná za necitlivost acetylcholinesterázové rezistence, str. 20 "...mutace sodíkových kanálů leucinu na fenylalanin", str. 20 "...mutant G119S An. gambiae AChE vykazuje snížený obrat enzymu ve srovnání s nemutovanou verzí"). Práce obsahuje také hovorové obraty (např. štoky) a anglické výrazy, které by se daly vhodně přeložit do češtiny (např. wild-type).

Připomínky:

Literární odkazy jsou součástí věty, neuvádí se tedy např. [1], ale [1].

Obrázky a tabulky v experimentální části a výsledcích by měly mít lepší popis - např. tabulka 8, str. 40 - stanovení čistoty a koncentrace, graf 1, str 44. porovnání absorbance AgACHEE1G119S a AgAChE1 nejsou dostačné a nezachycují co je na obrázku/v tabulce uvedeno.

Uvítala bych obrázek, který by dokumentoval pozici mutovaného glycínu v aktivním místě Ache, což by bylo lepší než jen popis na str. 20

Závěry, které jsou v práci uvedeny (na str. 45 a 47) jsou vzhledem k provedeným experimentům značně nadnesené. Mám na mysli tvrzení "tento rozdíl aktivit potvrzuje, že úžlabí u AgAChE-1 G119S je užší pro substrát" samotné stanovení aktivity nic takového nepotvrzuje, ač vliv mutace na šíři úžlabí byl v literatuře popsán.

Dotazy:

Na str. 17 uvádíte informace o periferním a aktivním místě na AChE. Vysvětlíte funkci periferního místa?

Mutaci acetylcholinesterasy An. gambiae označujete jako G119S. V práci Cheung J.A. (2018) Structure, 16(1), 130-136., kterou také citujete, označují tuto mutaci jako G280S. Vysvětlíte?

Na str. 30 je v části 4.2.3 popis roztěpení templátů enzymem DpnI? Proč se tento krok dělal?

V práci byla stanovována pouze aktivita supernatantu kultur Sf9 po infekci příslušnými bakuloviry a nikoliv aktivita komaří nemutované a mutované acetylcholinestrasy, jak je uvedeno na str. 43. Co by bylo třeba udělat, aby mohla být stanovena aktivita pouze těchto enzymů? Jak byste si jejich přítomnost potvrdila?

K měření aktivity byla použita Ellmanova metoda? Popište princip stanovení? Jaké jsou interference pro toto stanovení? Co bylo použito jako kontrola pro stanovení, jehož výsledky jsou na str. 43-44?

Vysvětlete jakým způsobem bude mutant G119S acetylcholinestrasy *Anopheles gambiae* sloužit ve vývoji nových insekticidů, jak je v práci uvedeno?

Výsledné hodnocení:

vyberte hodnocení

V Hradci Králové dne 20.5.2019

Podpis oponenta