

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmakologie a toxikologie

Studijní program: Farmacie

Posudek oponenta diplomové práce

Autor/ka práce: **Hana Danková**

Vedoucí práce: PharmDr. Ivan Vořál, Ph.D.

Rok obhajoby: 2020

Garant práce:

Oponent/ka: doc. PharmDr. Lukáš Červený, Ph.D.

Název práce:

**Characterization of ligand binding to M1 muscarinic acetylcholine receptor
using fluorescence anisotropy method**

Rozsah práce: počet stran: 57, počet obrázků: 12, počet tabulek: 5, počet citací: 64

Hodnocení práce:

- a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části: výborná
- b) Náročnost použitých metod: výborná
- c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost): výborné
- d) Kvalita získaných experimentálních dat: velmi dobrá
- e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost): výborné
- f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy: velmi dobré
- g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků: výborná
- h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů: velmi dobrá
- i) Splnění cílů práce: výborné
- j) Množství a aktuálnost literárních odkazů: výborné
- k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň): výborná
- l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): výborná

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení: Diplomová práce Hany Dankové byla vypracována v rámci programu Erasmus na pracovišti "Institute of Chemistry, University of Tartu". Cílem bylo využít metody fluorescenční anisotropie s fluorescenčním substrátem MK342 a vypučených (budu používat slovo budded) bakulovirů s M1 receptorem pro studium vazebných vlastností cholinomimetik, parasympatomimetik a parasympatolytik. Výše uvedené známkové hodnocení, prosím, berte jako rámcové, důležitější jsou tyto poznámky k hodnocení. Diplomová práce zpracovává relativně složité téma kombinující obory chemie, biologie, molekulární biologie, farmakologie a fyzikální chemie. Vzhledem k tomuto faktu se diplomantka s tématem popasovala výborně. Práce je dobře strukturovaná a psaná srozumitelnou angličtinou. Jedná se o první vědecký spis diplomanty, takže je pochopitelné, že se objevily i určité nedostatky, některé drobné a některé závažnější:

1. Při psaní titulu doktor filosofie je celosvětově preferovaná (a český Zákon o vysokých školách jinou alternativu ani nezná) Ph.D., takže v poděkování by spíše mělo být "I would like to thank PharmDr. Ivan Vokřál, Ph.D."
2. Pro čtenáře je trochu matoucí občasné užívání slov ligand a tracer jako synonym.
3. Na straně 13 je věta začínající "Current trend is the development..." citována prací z roku 2011, což lze za "současné" považovat pouze s přimhouřenýma očima.
4. Ojedinele se vyskytuje tečka před i za citací.
5. Za sebou následující věty na začátku druhého odstavce (strana 13) pospolu nedávají smysl.
6. V obrázcích užíváte SD, ale v tabulkách SEM. To by bylo dobré sjednotit.
7. Diskuse by mohla jít více do hloubky tématu a informace by mohly být lépe citované.

Dotazy a připomínky:

1. Co znamená pojem homogenní metoda (homogenous assay) užitý v abstraktu a pak i dále v textu?
2. Existují nějaká doporučení autorit v oblasti lékové politiky pro výzkum vazebnosti vyvíjených látek k receptorům v rámci např. preklinických studií?
3. Jak se docílí homogenního buddingu? Dle mých znalostí efektivita transfekcí mohou kolísat mezi experimenty, navíc budding a přijetí proteinů z cytoplazmatické membrány do pláště viru je děj asi spíše náhodný.
4. Mohla byste ještě jednou vysvětlit, jak byla měřena koncentrace M1 receptorů ve stocku a pak ve vzorku? Čím si vysvětlujete odlišný průběh křivek v obrázku 7A a 7B?
5. Čím si vysvětlujete, že parasymptolytika mají ve všech případech vyšší hodnotu IC50 v porovnání s agonisty (tabulka 4)?
6. Mohla byste krátce vysvětlit, jaký význam má korelace v obrázku 9? Předpokládám, že hodnoty pKi budou hodně závislé na testovaném systému (např. kolik receptorů exprimuje). Není tedy tady ta shoda s publikovanými daty spíše náhodná?
7. Myslíte, že posttranslační modifikace by mohly ovlivnit vazbu testovaného ligandu k M1 receptorům?
8. Kam myslíte, že se bude dále ubírat výzkum ligandů muskarinových receptorů?

Celkové hodnocení, práce je: výborná, k obhajobě: doporučuji

V Hradci králové dne 20. 5. 2020

.....
podpis oponentky / oponenta