

Posudek na bakalářskou práci

Jaroslava Geletičová (2011): Studium molekulárních parametrů ovlivňujících dynamické zhášení fluorescence. Bakalářská práce, Univerzita Palackého v Olomouci, Přírodovědecká fakulta, Katedra biofyziky, Olomouc, 40 st.

1. Začlenění práce do kontextu oboru

Studium molekulárních interakcí pomocí fluorescenčních metod je jedním ze silných nástrojů současné biofyziky. Nespornou výhodou fluorescenční spektroskopie je její neinvazivnost, vysoká citlivost a také možnost studia za nejrůznějších experimentálních podmínek. Samostatnou kapitolou je zhášení fluorescence, což je velmi efektivní metoda, neboť mnoho molekulárních interakcí právě zhášení fluorescence způsobuje. Zhášení fluorescence je tedy možné detailně studovat buď jako základní biofyzikální fenomén či jako zdroj informací o biochemických procesech. Předkládaná bakalářská práce spadá právě do tohoto tematického okruhu.

2. Charakteristika a hodnocení práce

2.1 Literární přehled

Bakalářská práce ve svých úvodních pasážích detailně popisuje fenomén zhášení fluorescence, rozděluje jej na statické, dynamické a jejich vzájemnou kombinaci. Dále se zabývá nelineárními efekty při zhášení fluorescence a snaží se o shrnutí nejrůznějších teorií týkajících se právě této problematiky. V poslední části literárního přehledu popisuje mechanismy zhášení a efekty, které zhášení fluorescence ovlivňují.

Nutno podotknout, že rešerše je pojata spíše „matematicky“, což jistě svědčí o autorčině zaujetí v tomto směru, ale i přesto, že se jedná o odvození již známých teorií, nikoliv o původní výsledky práce, objevuje se zde množství formálních chyb (věřím, že způsobených pouze nepozorností), které však pochopení popsaných závislostí značně komplikují. Například rovnice 2.5 na str. 8: v popisu pod rovnicí autorka píše o počátečních podmínkách $[F^*]_0$, které ovšem v popsané závislosti nijak nefigurují. Chybí snad index „0“ někde v rovnici? A co parametr τ_0 ? Jedná se o označení stejné veličiny, která figuruje a je popsána teprve až v rovnici 2.8?

Na str. 9 autorka píše o Stern-Volmerově grafu, aniž by zde bylo jasné popsáno, o jakou závislost se jedná. Na téže straně je uvedena rovnice 2.15 vzniklá kombinací předchozích dvou rovnic. Co znamenají „čárkované“ veličiny (F' a F_0')? Pokud je rovnice 2.15 kombinací dvou předchozích, popisuje opravdu poměr F_0 ku F ?

Obecně lze říci, že při popisování studovaných závislostí autorka nevěnovala pozornost dostatečnému vysvětlení. Není například úplně jasné, co znamenají některé znaky, kterými jsou pravděpodobně označeny veličiny či parametry, v rovnicích 3.7, 3.9 a 5.1. V obrázcích 1, 4 a 5 taktéž není jasné, co značí symbol F^* , k_A , atd.

2.2 Hodnocení formální úpravy práce

Z hlediska formálního členění a úpravy lze předkládanou práci hodnotit dobře. V textu se objevuje jen málo překlepů nebo gramatických chyb. Bakalářská práce je rozdělená do obvyklých kapitol, jednotlivé podkapitoly jsou odlišeny očíslováním i velikostí písma. Text je však psán možná až příliš stroze a stručně.

2.3 Hodnocení experimentální části bakalářské práce

V této části práce se autorka snaží na provedených zhášecích experimentech demonstrovat vliv různých efektů, diskutovaných v teoretické části, na výslednou analýzu dat a zhodnotit tak možnosti využití popsané teorie. Nutno říci, že autorka zde pracuje s velmi pokročilými technikami časově rozlišené fluorescence, což lze vzhledem k náročnosti interpretace hodnotit velmi kladně. Část Výsledky a Diskuze jsou zde spojeny v jednu což vzhledem k autorčině přílišné stručnosti může na čtenáře působit nejasně či „nevysvětleně“. Ovšem výsledky prezentované v této práci jistě představují cenný základ pro příští experimenty.

K experimentální části mám pouze pár poznámek. V části Materiál a metody autorka uvádí, že použitý fosfátový pufr má pufrační oblast okolo pH 7. Experimentálně zjištěnou hodnotu uvádí jako pH 6,83. Jsem si jistá, že fosfátový pufr lze s úspěchem použít i pro pH např. 6 či 8,5. Jak autorka pufr připravovala a proč se podle ní nedařilo dosáhnout hodnoty např. pH 7, kterou lze určitě při opakované přípravě nového roztoku pufru dosáhnout snadněji než tak specifickou hodnotu jako je 6,83? Má toto pH či volba právě tohoto pufru nějaké opodstatnění?

V kapitole 6.2.3 autorka uvádí, že steady-state intenzity fluorescence byly měřeny v režimu fotometrie a o pár řádků níž píše, že rychlost snímání byla zvolena na 240 nm/min. Opravdu? V experimentální části jsou prezentovány grafy demonstrující kinetiku dohasínání fluorescence, ale ani v jednom z nich není uvedeno, co představuje modře a co červeně vybarvená křivka. Tyto grafy jsou navíc popsány anglicky, navzdory tomu, že jazyk práce je čeština.

3. Náměty do diskuze

Pro obhajobu bakalářské práce předkládám otázky, které souvisí s prezentovanými výsledky a rovněž s celkovým charakterem bakalářské práce:

- (1) V teoretické části práce se zmiňujete o intersystémové konverzi. Jaké schéma tyto mechanismy popisuje? Napadá Vás způsob, jak by se dalo experimentálně zjistit, že ke zhášení došlo právě tímto mechanismem, pokud nedochází k nežádoucímu přechodu do základního stavu?
- (2) Jak lze experimentálně odlišit statické zhášení od dynamického, kromě závislosti na teplotě, o němž se zmiňujete v experimentální části?
- (3) V popisu u obrázku 13 se zmiňujete o parametru R^2 . Co tento parametr znamená? Uvádíte, že lineární regresí v obrázku 13 jste dosáhla hodnoty $R^2 = 0,99168$, což je podle Vás hodnota blízká nule, i přesto, že hodnoty R^2 se pohybují v rozmezí 0 až 1. Co podle Vás značí větší úspěšnost regrese? Hodnota blízká nule či jedničce?

4. Závěr

Předkládaná bakalářská práce Jaroslavy Geletičové je velmi kvalitní, svým rozsahem a obsahem zcela odpovídá obvyklému standartu. Z práce je patrná náročnost zadání i propojení tématu s výzkumným zaměřením na Katedře biofyziky UP v Olomouci. V experimentální části práce autorka splnila odborné cíle, které si předsevzala. Bakalářskou práci Jaroslavy Geletičové doporučuji k obhajobě.

V Olomouci, 23. 5. 2011

RNDr. Marika Janovská, Ph.D.