



Mgr. Aleš Benda, Ph.D.

Tel: +420 26605 3142

Email: ales.benda@jh-inst.cas.cz

Posudek školitele na diplomovou práci:

Bc. Marie Kolářová

obor Fyzikální chemie, PŘF UK v Praze

„Dynamic saturation optical microscopy using photoswitchable proteins“.

Úkolem diplomové práce Marie Kolářové bylo pokusit se vylepšit prostorové rozlišení konfokálního fluorescenčního mikroskopu za využití dynamické saturační optické mikroskopie (DSOM) aplikované na světlem přepínatelné proteiny. Ačkoliv se jednalo o náročné téma, zhostila se jej velmi dobře a práci dovedla k úspěšnému konci.

Prvním krokem bylo otestování fotofyzikálních vlastností světlem přepínatelných proteinů Dronpy a jejich klonů přímo v živých kvasničných buňkách, kde získala poznatky široce aplikovatelné pro různé fluorescenční metody využívající světlem přepínatelné fluorescenční proteiny. Získané znalosti poté využila pro optimalizaci vytváření obrázku se zvýšeným prostorovým rozlišením. Podařilo se nejen dosáhnout dvakrát většího prostorového rozlišení, ale zároveň zvýšit kontrast a potlačit autofluorescenční pozadí.

Úskalí tématu diplomové práce spočívalo zejména v její inovativnosti a komplexnosti. Inovativnost mimo jiné znamenala, že úspěšný výsledek byl velmi nejistý a dala se najít jen velmi malá podpora v existující literatuře. Navíc měření probíhala na průběžně vylepšovaném svépomocí stavěném fluorescenčním mikroskopu, který ne vždy fungoval tak, jak se očekávalo a tím kladl velké nároky na pozorné vyhodnocování získaných výsledků a vyloučení artefaktů. Tohoto dílčího úkolu se Marie Kolářová zhostila velmi dobře a významně tak přispěla k vyladění přístroje.

Komplexnost práce spočívala v nutnosti zvládnout vše od přípravy buněk včetně jejich genetické manipulace, přes detailní pochopení principu a realizace používaného mikroskopu, jak hardwarově tak softwarově, až po matematické odvození modelů přepínání a analýzu dat.

Marie Kolářová prokázala, že je schopna samostatné vědecké práce. Umí pracovat s literaturou a vyhledat v ní poznatky důležité pro vyhodnocení vlastních dat, je dostatečně kritická při vyvozování závěrů a disponuje invencí nutnou pro další samostatné rozvíjení studovaného tématu. Výsledky prezentované v této diplomové práci tvoří základ připravované publikace do mezinárodního recenzovaného časopisu (Biophysical Journal).



Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského AV ČR, v.v.i.

Dolejškova 2155/3, 182 23 Praha 8

IČ: 61388955, DIČ: CZ61388955

Telefon: 28658 3014, 26605 2011

Fax: 28658 2307, e-mail: director@jh-inst.cas.cz

Závěrem mi nezbývá nic jiného než plně doporučit předkládanou diplomovou práci k obhajobě.

V Sydney, Austrálie, dne 18.5.2011

Mgr. Aleš Benda, Ph.D.