

# Posudek práce

předložené na Matematicko-fyzikální fakultě  
Univerzity Karlovy v Praze

- posudek vedoucího  posudek oponenta  
 bakalářské práce  diplomové práce

Autorka: Bc. Šárka Gregrová  
Název práce: Ramanova mikroskopie a mapování jednotlivých buněk  
Studijní program a obor: Fyzika / Biofyzika a chemická fyzika  
Rok odevzdání: 2013

Jméno a tituly oponenta: Prof. RNDr. Jaromír Plášek, CSc.  
Pracoviště: MFF UK / Fyzikální ústav UK  
Kontaktní e-mail: plasek@karlov.mff.cuni.cz

## Odborná úroveň práce:

- vynikající  velmi dobrá  průměrná  podprůměrná  nevyhovující

## Věcné chyby:

- téměř žádné  vzhledem k rozsahu přiměřený počet  méně podstatné četné  závažné

## Výsledky:

- originální  původní i převzaté  netriviální kompilace  citované z literatury  opsané

## Rozsah práce:

- veliký  standardní  dostatečný  nedostatečný

## Grafická, jazyková a formální úroveň:

- vynikající  velmi dobrá  průměrná  podprůměrná  nevyhovující

## Tiskové chyby:

- téměř žádné  vzhledem k rozsahu a tématu přiměřený počet  četné

## Celková úroveň práce:

- vynikající  velmi dobrá  průměrná  podprůměrná  nevyhovující

## Slovní vyjádření, komentáře a připomínky oponenta:

Předložená práce obsahuje celkem 38 stran úvodu, 14 stran popisu experimentálních metod, 42 stran popisu dosažených výsledků, 17 stran diskuse a krátký závěr, plus několik stran příloh se sedmi tabulkami.

Úvod je nepřiměřeně rozsáhlý. Například 12 stran textu věnovaného kvasinkám je v kontextu této spektroskopické práce zbytečných, zejména co se medicínských aspektů kandidózy týká. Je škoda, že se autorka místo toho nevěnovala vyhledání daleko potřebnějších informací o koncentracích dvojmocných iontů ve vakuolách. Poměrně detailní popis teorie ramanova jevu zde také není třeba. Vdané podobě by měl smysl, pokud by se jednalo o práci porovnávající různé teoretické modely tohoto jevu. Zcela by stačilo uvést pouze Eq.14. Také zdouhavá pasáž věnovaná optické pinzetě je pro vlastní experimentální práci autorky zcela zbytečná. Určitě by pro čtenáře bylo vhodnější, aby mu místo tohoto textu byl nabídnut obrázek struktury hexametafosfátu, která v obr. 5, resp. 6 schází.

Z hlediska budoucího psaní samostatných odborných publikací se proto autorka bude muset naučit lépe rozlišovat mezi relevantními a irelevantními informacemi. Přemíru těch druhých nemívají recenzenti vědeckých prací rádi a málokdy je ve svých posudcích opravdu ocení. Chci však naopak pochválit přehledně a srozumitelně sepsanou kapitolu o faktorové analýze, která skvěle předchází provedené experimenty a prezentaci jejich výsledků.

Na závěr tohoto komentáře k úvodu zmíním dvě drobné chyby: Na obr.9 je pouze princip konfokálního mikroskopu, nikoli mikrospektrometru. Na str. 21 by nemělo být „naadsorbované molekuly“, ale „adsorbované molekuly“.

Popis experimentálních metod má solidní úroveň. K této kapitole mám následující poznámky:

Uvítal bych, kdyby se v rozpravě po přednášce autorka zmínila, jak odhadovala axiální rozlišení mikroskopu, viz str. 40.

Během přednášky by měla zaujmout stanovisko k možným nežádoucím důsledkům dlouhodobého držení kvasinek v desilované vodě během měření ramanových spekter (až 5 hodin, viz str. 42).

Dále by měla srozumitelně vysvětlit, jak bylo změřeno či stanoveno (?) fluorescenční pozadí, které bylo odečítáno od subspekter. Nebylo by lepší odečítat fluorescenci již od syrových spekter ramanova rozptylu?

Na závěr si dovoluji připomenout, že pelety vzniklé centrifugací nerozpouštíme, ale resuspendujeme.

V rámci prezentace dosažených výsledků mohla autorka ukázat vedle vypočtených subspekter alespoň jeden příklad jim odpovídajícího spektra ramanova rozptylu. To se ovšem dá napravit během obhajoby práce.

Vyznat se v detailní prezentaci výsledků faktorové analýzy měřených spekter nebylo lehké, takže akceptování diskuse k jednotlivým spektrálním pásům je spíše projevem důvěry oponenta ve správné provedení této analýzy než možnosti kriticky zhodnotit její relevantnost. Proč jsou v některých případech uváděna kromě S1 a S2 též subspektra S3, resp. S4. Naopak v obr.49 subspektrum S1 chybí.

Při měření vlivu dvojmocných kationtů na spektra polyfosfátu byly použity poměrně vysoké koncentrace těchto kationtů – mnohem vyšší než mohou být ve vakuolách. Neztrácí tím celá tato experimentální partie smysl?

Většina mých připomínek týkajících se 5. Kapitoly (Diskuse) následuje níže, bodě Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze. Zde se omezím pouze na poznámku ke str. 107, 1. odstavec shora, kde autorka konstatuje, že zjištěné rozdíly ve spektrech mohou být důsledkem „velmi subtilních rozdílů v zacházení před měřením nebo v průběhu měření“. Obávám se, že je to pravda, neboť převážení kvasinek v ledu napříč Prahou nepředstavuje dostatečně dobře definovaný detail experimentálního protokolu.

### **Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:**

V diskusi není jasně řečeno, co se podařilo zjistit díky vypočtení vyšších subspekter, která nejsou nikde presentována. Upřesněte to během rozpravy nebo již při přednášce.

Ad obr. 24 a další týkající se porovnání spekter lag a log kvasinek, resp. spekter kvasinek pěstovaných v různých médiích: Jakou výhodu mají v těchto srovnáních „průměrná“ S1 subspektra oproti alternativnímu prostému zprůměrování obyčejných spekter ramanova rozptylu těchto buněk?

Ad obr.31 a další podobné histogramy: Bylo by možné sestavit podobný histogram poloh pásu  $(PO_3)^{2-}$  pouze pomocí obyčejných spekter ramanova rozptylu?

Jaký význam mohou mít získané informace o změnách ramanových spekter polyfosfátů z hlediska rozšíření našich znalostí fyziologických vlastností, resp. patogenicity kvasinek *C. albicans*, která byla obšírně probírána v úvodu této diplomové práce?

Jsem přesvědčený, že výše položeným otázkám se autorka nebude moci vyhnout ani v případě přípravy publikace získaných výsledků v odborném časopise.

### **Práci**

doporučuji

nedoporučuji

uznat jako diplomovou/bakalářskou.

### **Navrhuji hodnocení stupněm:**

výborně  velmi dobře  dobře  neprospěl/a

Místo, datum a podpis oponenta: V Buštěhradě dne 18.5.2013