

Posudek na bakalářskou práci	
<input type="checkbox"/> školitelský posudek <input checked="" type="checkbox"/> oponentský posudek	Jméno posuzovatele: Aleš Soukup, PhD. <hr/> Datum: 4.9.2016
Autor: <div style="text-align: center;">Pavčina Šámalová</div>	
Název práce: <div style="text-align: center;">Vývoj mikroskopických technik a jejich vliv na zobrazování buněčných struktur</div>	
<input checked="" type="checkbox"/> Práce je literární rešerší ve smyslu zveřejněných požadavků (pravidel). <input type="checkbox"/> Práce obsahuje navíc i vlastní výsledky.	
Cíle práce (předmět rešerše, pracovní hypotéza...) <p>Jak autorka shrnuje v abstraktu: „Cílem práce je literární rešerše na téma zobrazování objektů v rámci buněčné biologie pomocí mikroskopických technik (elektronová mikroskopie, konfokální mikroskopie). Práce stručně popíše vývoj mikroskopických technik ve 20. století a zaměří se na diskuzi týkající se objektivitu zvolených technik a problematiky důvěryhodnosti a interpretace výsledů získaných tímto typem pozorování.“</p>	
Struktura (členění) práce: <p>Práce má poměrně standardní uspořádání s úvodem a diskusí na konci. Předpokládám, že diskuse bude zacílena primárně na fakta uvedená v předchozím textu, zde je spíše zamyšlením nad korektností a estetikou vědecké mikrofotografie.</p>	
Jsou použité literární zdroje dostatečné a jsou v práci správně citovány? Použil(a) autor(ka) v rešerši relevantní údaje z literárních zdrojů? <p>Autorka v práci uvádí 72 relevantních zdrojových publikací, které jsou v textu i seznamu literatury uvedeny ve víceméně jednotném formátu. Pouze u některých citací v textu jsou uvedena první a druhá jména u jiných pouze příjmení (např. strana 5). Myslím, že je vhodné v textu uvádět v případě autorského kolektivu et al. a nejen příjmení prvního autora. Neprováděl jsem systematickou kontrolu, ale náhodou jsem našel jednu referenci chybějící v seznamu literatury (Egger, 1967). Na konci práce je uveden i seznam zdrojů obrázků. Zde se domnívám, že se jedná o zbytečnou duplicitu, protože jsou shodné údaje již v legendě obrázků. Trochu nejasně vypadá odkaz „NEBESÁŘOVÁ, Jana. [online]. (20. 7. 2016). Dostupné z: http://www.paru.cas.cz/lem/book/Podkap/4.2.html„, kde si nejsem jistý, k čemu se odkaz vztahuje.</p>	
Pokud práce obsahuje (nadstandardně) i vlastní výsledky, jsou tyto výsledky adekvátním způsobem získány, zhodnoceny a diskutovány? <p>Práce je literární rešerší a vlastní výsledky neobsahuje</p>	

Formální úroveň práce (obrazová dokumentace, grafika, text, jazyková úroveň):

Text je napsaný rozvláčným a vzletným jazykem, který ale bohužel příliš neodpovídá „vědeckému“ stylu, kde se pozitivně hodnotí spíše přesné a úsporné vyjadřování efektivně předávající informace. Práce obsahuje přijatelné množství překlepů a má standardní grafickou úpravu. Rukopis je doplněn obrázky, z nichž některé mají spíše estetickou, než informační hodnotu (např obr 1. a 2.). Myslím, že není vhodné u obrázků, které byly převzaty uvádět, že „byly upraveny“ dle zdroje. Na druhou stranu oceňuji, že jsou uvedeny obrázky z původních prací staršího data, s kterými studentka pracovala.

Splnění cílů práce a celkové hodnocení:

Práce si vzala za cíl vymezit souvislost mezi technickým rozvojem mikroskopie a biologických oborů (cytologie), které jsou s jejím využitím těsně spojeny. Domnívám se, že je škoda, že se práce více nezacílila na několik vybraných technik (např. pouze světelnou mikroskopii), nebo buněčných struktur. Obsáhnout ve velké šíři řešené téma je poměrně komplikované a obávám se, že v BP obtížně splnitelné. Široké téma svádí k použití obecných, učebnicových faktů a nekonkrétních konstatování. Hodnocený text tak vyznívá velmi obecně, zdá se být celkově značně povrchní a v řadě míst je i zavádějící.

Pro ilustraci uvádím několikero příkladů:

Strana 3: „K tomu, aby bylo vidět to, co není pro světelnou mikroskopii zobrazitelné, je možné použít fluorescenčních značení a pomocí laserů o určité energii vyvolávat fluorescenci o nižší energii u označených objektů. Některé organické látky, obvykle se zvýšeným obsahem aromatických aminokyselin, mají přirozenou autofluorescenci, již můžeme využít při pozorování buněk (Lakowicz, 2006). Tím, že je při získávání signálu využito laserů, lze barvit jeden vzorek více fluorescenčními barvami najednou a více lasery o různých vlnových délkách vyvolávat jejich signály.“

Strana 4: „Po pozorováních, ke kterým byla využívána čistě optika, přichází elektronová mikroskopie, která již nevyužívá světlo ani lidské oko coby čidlo. Obraz je získáván pomocí detekovaných elektronů procházejících vzorkem (transmisní elektronový mikroskop) nebo pomocí zaznamenaných elektronů odštěpujících se ze vzorku (John J. Bozzola, 1998). Lidskému oku je soubor takto získaných dat předkládán ve formě černobílého obrazu.“

Strana 7: Studentka se maličko zmateně zmiňuje o vynálezu dvou základních způsobů využití konfokální clony u LSCM a konfokálního mikroskopu na bázi rotujícího disku následně píše „První konfokální mikroskop fungující na principu Nipkowova kotouče sestrojil Mojmir Petráň z Lékařské fakulty v Plzni v tehdejší Československu (Egger, 1967). Dnes se však využívá hlavně technologie s konfokální clonou“. Uvedený text vyznívá, jako by princip rotujícího disku nebyl aktuální a nepoužíval konfokální clonu. Naopak bych zde čekal diskusi nad rozdílným využitím a vlastnostmi obou systémů při pozorování biologických objektů. Připojená citace (Egger, 1967) není v seznamu literatury.

Trochu zavádějící mi připadá obrázek č. 5. Opravdu si studentka myslí, že takto zcela rozostřený obrázek je typický pro wide field fluorescenční mikroskopii? Také předpokládám, že se jedná o 20um silný řez a ne střevo, jak je uvedeno v legendě.

Kapitola o historii buněčné teorie pouze z přehledových článků a interpretace těchto není vždy správně. Opravdu tvrdí pan Hook v kapitole o pozorování korku

(Micrographia), ze kterého vychází název buňka, že „tyto buňky slouží k proudění tekutin rostlinou“ (strana 13)?

Strana 19: „Zobrazovat jádro bylo, pro jeho tloušťku, pro transmisní elektronovou mikroskopii obtížné. Na elektronmikroskopických snímcích mělo jádro stejnou hustotu a tudíž i barvu, výjimku tvořilo jadérko, jež bylo rozpoznatelné. Pro lepší zobrazení jádra užíli více druhů fixace, které však vedly u buňky ke scvrkávání cytoplazmy a granulaci v jádře (viz obr. 15) (Porter, 1945). Jak je patrné z obrázku 16 (který má větší zvětšení), za téměř dvacet let se zobrazování jádra elektronovou mikroskopií zlepšilo a značně se již podobá dnešním snímkům.“

Není snad tloušťka ultratenkých řezů stále podobná? Jakou barvu má jádro na elektronmikroskopickém obrázku? Co se tedy změnilo a zlepšilo vizualizací?

Podobná tvrzení a ne zcela zdařilé formulace provázejí čtenáře i v ostatních částech práce

V části věnované pozorování jednotlivých organel mi opět není jasné, proč jsou vybrány pouze jádro, chloroplast, mitochondrie, GA a ER? Chápu, že nelze popsat v přijatelné hloubce všechny buněčné komponenty, ale bylo by dobré vysvětlit, podle čeho se řídil výběr a jaké je vymezení dalšího textu. Velmi krátce zmíněné jaderné póry jsou hezkým příkladem, který by mohl opravdu prezentovat pokrok 20. a 21. století, protože k vizualizaci jejich struktury výrazně přispěla superresoluční mikroskopie, která bohužel v práci není vůbec zmíněna (poslední Nobelova cena za mikroskopickou techniku z roku 2014).

Diskuse je poněkud nezaostřená a v některých místech pro mne i nesrozumitelná. Např.:

Strana 24 - „Obraz je již nejen podpůrnou ilustrací doplňující předkládanou hypotézu, nýbrž přímo zkoumaným souborem dat. Obrázek s vysokým rozlišením je nejčastějším způsobem užití analýzy sebraných dat (Samuel 2013).“

Strana 26 - „Vžilo se též využití schématické ilustrace vedle elektronmikroskopického snímku pro objasnění čtenáři, jak interpretovat obraz (viz obr. 10). Podložení obrazem upevňuje pozici molekulární biologie. (u obr. 10 není schéma)

Ocenil bych, pokud by v diskusi byl patrný autorčin názor na občas poněkud „extrémní“ názory diskutovaných autorů týkající se úpravy mikrofotografií (unifikace barev ve vědecké mikrofotografii, stejnost a nestejnost při pozorování různými technikami, atd.)

Otázky a připomínky oponenta:

Proč se vlastně v mikroskopii používají lasery?

Lze použít vícenásobné fluorescenční značení bez laseru?

Proč se často v elektronové mikroskopii využívá oxid osmičelý? Je to opravdu pouze pro jeho „kontrastovací“ schopnosti?

Používá elektronová mikroskopie optiku?

Jakou výhodu poskytuje mražení vzorků pro elektronovou mikroskopii a využití technik jako jsou mrazové lámání (freeze-fracture) a ultrakryotomie? (strana 6)

Existuje technika konfokální mikroskopie, kde není nutné využít konfokální clonu?

Podle jakého klíče vybírala autorka mikroskopické metody začleněné do textu. Například akustická mikroskopie je jistě zajímavým přístupem, ale v biologii není právě běžná na rozdíl od technik jako je TIRF, DIC, fázový kontrast, superresoluční techniky a další, které se výrazně zasloužili o pokrok cytologie.

Návrh hodnocení školitele nebo oponenta (bude zveřejněn)

výborně velmi dobře dobře nevyhověl(a)

Podpis školitele/opponenta:

Instrukce pro vyplnění:

- Při posuzování je nutno zohlednit požadavky stanovené pro vypracování bakalářských prací – viz:
<https://www.natur.cuni.cz/biologie/studium/bakalarske-studium>
a <https://www.natur.cuni.cz/biologie/studium/bakalarske-obhajoby>
- Tučně vyznačené rubriky jsou povinnou součástí posudku.
- Prosíme oponenty i školitele o co nejstručnější a nejvýstižnější komentáře k jednotlivým bodům, celková délka by neměla přesáhnout 2 strany (jednotlivé boxy lze prodloužit i zkrátit)
- Zaškrtavání políček: Vložte kurzor před políčko, klikněte pravým tlačítkem myši, zvolte **Vlastnosti**, vyberte **Zaškrtnuto** a **OK**.

Instrukce pro doručení:

- Posudek, prosím, zašlete v elektronické a rovněž tištěné formě. Elektronická verze bude zveřejněna s předstihem na internetu, tištěná poslouží jako součást protokolu o obhajobě.
- Posudek v **elektronické podobě** na e-mailovou adresu lucie.cermakova@natur.cuni.cz. Student by jej měl mít k dispozici nejméně tři pracovní dny před obhajobou.
- **Vytištěný a podepsaný výtisk** na adresu: Katedra filosofie a dějin přírodních věd PŘF UK, Viničná 7, 128 44 Praha 2. Stačí jej donést na katedru v den konání obhajoby.