

Posudek oponenta bakalářské práce

Autor: Jakub Kubečka

Studijní obor: Chemie v přírodních vědách

Název práce: Počítačové simulace fluorescenční korelační spektroskopie

Oponent: RNDr. Radek Šachl, Ph.D.

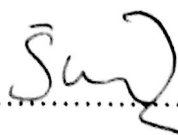
Fluorescenční korelační spektroskopie (FCS) je poslední dobou docela populární metoda, která umožňuje studovat dynamické procesy odehrávající se na molekulární úrovni. Nejčastěji je tato metoda používána při studiu difúze jednotlivých molekul. Autor předkládané bakalářské práce se zabývá otázkou, do jaké míry lze aplikovat model volné difúze bodové částice, který je používán při analýze dat z FCS, na difúzi větších molekul. Takové molekuly vykonávají složitý subdifúzní pohyb vůči svému těžišti, čímž vyvstává otázka, jakým způsobem tento pohyb ovlivňuje autokorelační funkci, jež je běžným výstupem FCS měření. Autor se pokouší zodpovědět tuto otázku pomocí počítačových simulací založených na molekulové dynamice a odchylku od modelu volné difúze částice vyjadřuje pomocí středního kvadratického posunutí vypočteného ze simulace (MSD) a toho získaného ze simulované autokorelační funkce (MSD*). Výsledky přehledně a srozumitelně shrnuje v předkládané práci s rozsahem 37 stran členěných do 8 kapitol.

Autor používá ve své práci několik simulačních modelů s a bez hydrodynamických interakcí a dochází k závěru, že pokud je fokální objem větší než je hydrodynamický poloměr makromolekuly, odchylka MSD* od MSD je méně než jedno procento, zatímco pro fokální objemy menší než je hydrodynamický poloměr nabývá tato odchylka až 4 %. Vliv vnitřních pohybů molekuly má tedy pouze malý vliv na výpočet správné hodnoty MSD.

K samotné práci mám následující dotazy. Autor prezentuje všechny své výsledky v relativních jednotkách. Čas je např. vyjádřen v $R_0^2/6D_1$, kde R_0 je průměrná délka vazby a D_1 difúzní koeficient částice. Dosadím-li však za tyto veličiny reálné hodnoty, vychází mi, že data byla korelována na časové škále cca. 10 ps – 100 ns, tedy škále, která není v celé své délce fluorescenci přístupná a pokud je, je ovlivněná antibunchingem. Je jasné, že problém pramení z toho, že studovaná makromolekula je příliš krátká. To mě vede k tomu se zeptat: 1) Jakou (ne)shodu mezi MSD a MSD* očekáváte pro větší, FCS experimentu více přístupné makromolekuly; 2) s ohledem na současný stav v mikroskopii (prolomení difrakčního limitu, který také mj. ve své práci citujete) navrhněte experiment, který by měl šanci vaše simulovaná data potvrdit; 3) Co je to antibunching ve spojení s FCS? 4) V oblasti FCS se často odchylky od volné difúze prezentují ve formě tzv. „diffusion law“ závislosti, kde se např. vynáší difúzní čas τ_D proti druhé mocnině fokálního poloměru ω^2 . Jak taková závislost vypadá ve vašem případě?

Závěrem bych chtěl ocenit, že autor vyprodukoval v rámci bakalářské práce plno originálních dat. Je vidět, že dané problematice rozumí, umí své výsledky prezentovat a také je kriticky zhodnotit. Proto navrhuji hodnocení **výborně**.

V Praze 1.června 2015


.....
RNDr. Radek Šachl, Ph.D.