

DOKTORSKÁ PRÁCE – HODNOCENÍ OPONENTA

Autor práce: Radek Litvín
Název práce: Photochemistry of photosystem II reaction centre: Alternative electron pathways
Vedoucí práce: Doc. RNDr. František Vácha, CSc.
Oponent práce: Doc. RNDr. Jiří Kalina, Ph.D.

1. Jak hodnotíte téma (zadání) práce?

Aktuální téma s širokými možnostmi aplikace.

2. Byly splněny cíle doktorské práce?

a) v plném rozsahu b) částečně c) nebyly splněny

3. Jak hodnotíte práci z formálního hlediska? (Struktura a návaznost částí práce, jazyková úroveň, celková úprava.)

a) výborná b) vyhovující c) nevyhovující

4. Úroveň práce s odbornou literaturou.

a) výborná b) vyhovující c) nevyhovující

5. Úroveň grafů, tabulek, fotodokumentace, příloh.

a) výborná b) vyhovující c) nevyhovující

6. Odpovídá úroveň zpracování výsledků, diskuze i závěrů úrovni doktorské práce?

a) v plném rozsahu b) částečně c) nedostatečně

7. Věcné připomínky a dotazy k autorovi práce:

Vím že, Lambert Beerův zákon se často píše ve formě takové jakou uvádí doktorand na str. 55 a dokonce to v dalším textu upřesňuje, ale pro úplnost by bylo vhodné uvést i do rovnice, které veličiny jsou závislé na vlnové délce.

Jako oponent jsem měl lehkou úlohu vzhledem k tomu, že doktorand byl autorem či spoluautorem článků ve významných světových periodikách.

ZÁVĚR: Práci k obhajobě doporučuji nedoporučuji.

Celkové hodnocení: jednoznačně doporučuji

V Ostravě dne 30.4.2009.


.....
oponent

'Photochemistry of photosystem II reaction centre: Alternative electron pathways'

Hlavní funkcí fotosyntetických reakčních center je využití excitační energie získané absorpcí světelných fotonů k separaci elektronu a jeho následnému transportu. Předložená disertační práce se zabývá studiem procesů ke kterým dochází v reakčních centrech fotosystému II po separaci elektronu. Kromě vlastních měření a jejich interpretace se Radek Litvín podílel i na vývoji aparatury navržené Pavlem Šiffelem, která umožňuje tyto děje v reakčních centrech sledovat a to na základě měření změn v absorpci a fluorescenci.

Práce je založena na třech článcích publikovaných v mezinárodních vědeckých časopisech. Radek Litvín je prvním autorem dvou z nich, u zbývajících je druhým autorem. Hlavní část práce tedy již prošla oponenturou v recenzním řízení. Publikace jsou doplněny doprovodným textem s úvodem do studované problematiky a dodatky obsahujícími popis experimentálních metod a charakterizaci použitého přístrojového vybavení. Práce je psána dobrou angličtinou, občasné chyby jsou spíše překlady neodhalitelné automatickou kontrolou pravopisu (např. v popisu grafů na str. 63-65 se objevuje slovo 'log' namísto 'long'). Celkové zpracování práce odpovídá formě běžné na západních univerzitách.

První publikace se zabývá charakterizací vybudované aparatury, která umožňuje simultánní měření absorpce a fluorescence s mikrosekundovým časovým rozlišením. Aparatura je výjimečná zejména schopností naměřit data s velmi dobrým poměrem signál/šum již po excitaci jednotlivými pulsy. Možnosti aparatury jsou demonstrovány na několika příkladech. V druhé publikaci bylo studováno zhášení fluorescence chlorofylů v reakčním centru vyvolané akumulací redukovaného feofytinu. Získané výsledky naznačují, že přímé zhášení redukovaným feofytinem je zodpovědné pouze za část pozorovaného poklesu intenzity fluorescence. Zbývajících část zhášení je připisována na vrub konformačním změnám a to buď na úrovni molekuly feofytinu nebo okolního proteinu. Ve třetí publikaci je zkoumáno působení akceptorů elektronu a diskutuje se rozdílný vliv hexakynoželezitanu (ferikyanidu) draselného a dihydroxy-oxo-silanu (silikomolybdatu) na izolovaná reakční centra fotosystému II a komplexy reakčních center s vnitřními anténami.

Celkově dobrý dojem z práce narušují pouze ojedinělé nepřesnosti. Např. na straně 40 se uvádí: 'Oxidized primary donor (P680⁺) is the most positive charge found in a living matter' Zde se ale spíše než o náboj jedná o velikost redoxního potenciálu P680⁺. Na stranách 19-22 a 32 se uvádí jako délka pulsu měřícího světla téže lampy buď 1 nebo 2 μ s. Přestože se jedná z hlediska práce o nepodstatný detail, nejednotnost působí rušivě. Na některých místech jsem v textu postrádal poněkud podrobnější vysvětlení. Pro lepší pochopení práce bych proto byl rád, kdyby se autor v rámci obhajoby mohl vyjádřit k následujícím dotazům:

1. Na straně 22 se uvádí že energie v pulsu xenonové výbojky používané jako zdroj aktinického světla je 4 mJ. Na straně 21 je informace o tom že jako zdroj měřícího světla byla používána jiná xenonová lampa s energií v pulsu až 0.5 J. Měřící lampa tedy může poskytovat více než 100x silnější pulsy než lampa excitační. Vzhledem k tomu že aktinické účinky měřícího pulsu by měly být zanedbatelné, zajímalo by mě jaké energie excitačních a měřících pulsů byly ve skutečnosti při experimentech používány. Tuto informaci se mi v práci nepodařilo nalézt. Na straně 22 se sice uvádí že stopa měřícího světla je kvůli zmírnění aktinického efektu rozšířena z 1.5 na 9 mm, ale vzhledem k tomu že stopa excitačního záření by měla být minimálně stejně velká to problém nevysvětluje.

2. Na straně 43 jsou podobné výsledky získané po excitaci modrým a červeným světlem

interpretovány jako důkaz toho, že pozorovaný kation β -karotenu vzniká interakcí s oxidovaným donorem elektronu P680⁺ a nikoli silikomolybdátem. Jak ale byla vyloučena možnost že by silikomolybdát oxidoval β -karoten přímo v základním stavu, tj. bez nutnosti jeho předchozí excitace modrým světlem? V případě excitace červeným světlem by P680⁺ také musel oxidovat β -karoten v základním stavu.

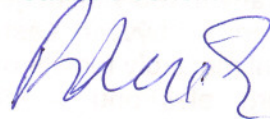
4. Na stranách 46-47 jsou diskutovány rozdílné efekty ferikyanidu a silikomolybdátu na studované vzorky, nejsou ale vysvětleny nebo alespoň navrženy důvody jejich rozdílného působení. Proč tedy oba elektronové akceptory účinkují tak rozdílně? Je to způsobeno rozdíly v jejich redoxním potenciálu, použité koncentraci nebo v jiné vlastnosti ve které se obě molekuly liší, např. velikostí?

5. Původně jsem se domníval že ve studovaném 5chlRC chybí Chl₂D1 a CarD1. Toto přiřazení se ale zdá být na několika místech diskuse k třetí publikaci zpochybněno. Jaký je tedy názor autora na složení 5chlRC?

Na závěr mohu konstatovat, že předložená disertační práce prokazuje odborné schopnosti Mgr. Radka Litvína na úrovni očekávané od absolventa doktorského studia. Domnívám se, že autor má všechny předpoklady k úspěšnému pokračování ve vědecké práci. Práce svou kvalitou vyhovuje nárokům na disertační práci a doporučuji proto, aby byla připuštěna k obhajobě.

V Praze dne 4. května 2009

Jakub Pšenčík





Akademie věd České republiky
ÚSTAV EXPERIMENTÁLNÍ BOTANIKY, v. v. i.

CZ - 160 00 Praha 6, Na Karlovce 1a

Tel: (+420) 224 310 209

Fax: (+420) 224 310 113

E-mail: synkova@ueb.cas.cz

Oponentský posudek doktorandské disertační práce

Název: „Photochemistry of photosystem II reaction centre: Alternative electron pathways“

Autor: Radek Litvín

Předložená práce se zabývá studiem alternativního transportu elektronů v reakčních centrech fotosystému II (PS II). Ten je možno studovat za podmínek, kdy dochází k inhibici primárního donoru elektronů. Procesy, jako je cyklický transport elektronů nebo zhášení excitační energie slouží v podmínkách stresu zřejmě jako ochranné mechanismy, které chrání PS II reakční centra proti oxidačnímu poškození a fotoinhibici. Studium těchto procesů bylo jedním z cílů předložené práce, což je zřejmé i z jejího názvu. Nicméně dalším, a neméně důležitým cílem, který už z nadpisu zřejmý není, je konstrukce a testování nového přístroje, kinetického spektrometru/fluorimetru, který byl na pracovišti navržen a zkonstruován a jehož je autor předložené práce spoluautorem, což dokládají i přiložené publikace. Tento přístroj umožňuje simultánní měření změn světlem indukované absorbance a fluorescence, které je nezbytností pro studium výše zmíněných jevů. Součástí práce však není jen testování nového přístroje, ale i řada významných původních výsledků, které byly publikovány v odborném tisku.

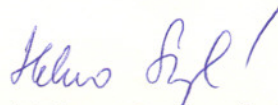
Práci tvoří 6 kapitol, z nichž II. - IV. jsou tři články publikované v recenzovaných časopisech. Práce je napsána v anglickém jazyce, má 68 stran a 12 obrázků mimo uvedené publikace. Po jazykové stránce je práce vyhovující, počet chyb a překlepů je malý.

Kvalita práce je po odborné stránce již předem garantována skutečností, že všechny tři uvedené články prošly úspěšně recenzním řízením a vyšly v odborném tisku. První publikace představuje nový kinetický spektrometr/fluorimetr, jeho konstrukci a možnosti. Druhá publikace se zabývá využitím výše zmíněného přístroje pro studium konformačních změn v reakčních centrech PS II. Třetí publikace využívá možnosti přístroje pro studium fotooxidace β -karotenu a periferního chlorofylu v reakčních centrech PS II.

I když práce obsahuje všechny nezbytné informace, celkově mi připadá její členění trochu nešťastné. Po kapitole I. (úvod), která sice poměrně stručně, nicméně velmi přehledně a celkem čtivě uvádí čtenáře do dané problematiky a shrnuje nejnovější poznatky, následují kap. II. - IV. (tj. výše zmíněné publikace). Potom následuje kap. V., podle mého názoru méně povedené shrnutí (Summary), a kap. VI. (Appendix), která se zabývá v podstatě použitými metodami. A právě zařazení celé této kapitoly až na konec se mi zdá trochu nešťastné. I když autor na konci kap. I. uvádí, že práce má v podstatě dva hlavní cíle, tj. 1. testování nového přístroje a 2. studium vlastností elektrontransportního řetězce v reakčních centrech PS II, není nikde v úvodu ani zmínka o tom, že existuje potřeba zkonstruovat takový nový přístroj. Myslím, že by si to zasloužilo alespoň odstavec v úvodní kapitole, tzn. shrnout hlavní důvody pro konstrukci takového přístroje. Stačilo by přesunout část závěrečné kap. VI. (tj. Appendix), která vysvětluje nejdůležitější obecné principy, na kterých přístroj funguje, do úvodu. Technické detaily a další metodiky by pak mohly zůstat v závěrečné kapitole.

Je zřejmé, že během své práce zvládl autor značný rozsah metod a získal hodnotné výsledky. Předložená práce odpovídá z hlediska odborného i formálního nárokům kladeným na disertační práci a proto ji doporučuji k přijetí.

V Praze 17. Dubna 2009



RNDr. Helena Synková, CSc.