

Příloha k protokolu o SZZ č.

Vysoká škola: JU Pedagogická fakulta

Katedra: fyziky

Datum odevzdání posudku: 28.1.2008

Diplomant: Roman Maroušek

Aprobace: AMVT

Oponent diplomové práce:

RNDr. Marie Vancová, Ph.D.

Posudek diplomové práce

Mrazová sublimace v kryonástavci Gatan Alto 2500 skenovacího elektronového mikroskopu JSM-7401F

(téma)

Předpoložená magisterská práce rozpracovává velmi aktuální problematiku, která je v současnosti řešena v Laboratoři elektronové mikroskopie Parazitologického ústavu BC AV ČR, v.v.i. Práce je rozdělena na dvě, jak autor uvádí, logické části.

Teoretická část probírá celkem zasvěceně téma práce a svědčí o tom, že autor se s danou problematikou dobře seznámil. Přesto jsem našla několik tvrzení/formulací, které nejsou zcela srozumitelné. Prosím autora o vysvětlení dvou níže citovaných tvrzení ze str. 20 a doložení jejich správnosti konkrétní citací literatury.

„Můžeme ale dokázat, že čas mrazové sublimace pro daný vzorek v optimálních vakuových podmínkách je závislý na teplotě preparátu, takže nejkratší čas je dosahován, jestliže je vzorek držen právě pod touto teplotou možné rekrystalizace ledu. Pro biologické vzorky s vysokým obsahem vody nastává jev rekrystalizace při teplotě okolo -80°C (193K) a zamrznutí okolo 233K (rekrystalizace je také časově závislý jev).“ Co znamená termín zamrznutí a podchlazení? Jsou známy teploty rekrystalizace ledu při použití kryoprotektantu? Je teplota rekrystalizace vody v biologických preparátech (-80°C) opravdu tak jistá?

Autorovi se povedlo zavést několik netradičních termínů, například termín „kryogen“ nebo „chladící suspenze“, lze jistě lépe nahradit například termínem „chladící kapalina“; dále místo „binokl“, lépe binokulární lupa, atd.

Autor popisuje řadu vlastností tekutého dusíku, které jej předurčují jako velmi vhodnou chladící kapalinu pro kryofixaci biologických vzorků. Nezmiňuje však velmi důležité a pro praktické využití kapalného dusíku nepostradatelné informace o jeho nevýhodách. Prosím o zodpovězení otázek: „Jaká jsou úskalí při mražení preparátů jejich ponořením do tekutého dusíku? Jaké jsou výhody použití dusíkové tříště?“

Prosím o vysvětlení tvrzení ze str. 25: „Zajištění prodloužení suchého uchování imobilizovaných biomolekul se PBS používá jako biomolekulární rozpouštědlo....“

Pokládám za nevhodné používat v českém textu anglické termíny navíc několikrát v textu opsané s chybami: „kryoattechement, kryoattechementem“, dále „slushning station“. Toto slovo lze nahradit slovem „kryonástavec“ nebo „kryozařízení“. Další termíny jsou například na str. 41: „.....K měření není třeba zprovoznit samotný mikroskop, ten ponecháme ve standby stavu“. Absolvent katedry fyziky by se měl jistě vyjadřovat přesněji: „Ty (tzn. duralové terčíky) jsem ale upravil vyvrtáním otvoru s určitou (co největší) plochou“. Plochu kapaliny autor uvádí na str. 39 v milimetrech!

V praktické části autor popisuje průběh pokusů a detailně také podmínky, při kterých byly pokusy provedeny. Přesto není specifikována například typ a molekulární velikost Dextranu. Příprava fosfátové pufrů je uvedena v teoretické části. Pufr, který je zde uveden, však není běžně používán jako vypírací roztok. Pro vypírání preparátů se v EM používá 10mM fosfátový pufr + 150mM NaCl (označovaný jako PBS) nebo 0.1M fosfátový pufr s 4% glukosou (tzv. vypírací roztok).

Výsledky dosažené při sublimaci vody při -80°C jsou velmi zajímavé. Jejich správnost podporuje i fakt, že nedošlo k sublimaci (nebo téměř žádné) 20% kryoprotektantu. To je způsobeno pravděpodobně proto, že kryoprotektant není těkavý nebo v této koncentraci jen minimálně. Při pozorování biologického preparátu, který byl prosycen kryoprotektantem, však k minimální sublimaci, při které dochází k odhalení struktury, dochází. Pro měření minimální sublimace kryoprotektantů a sublimaci vody při nižších teplotách než je -80°C bude nutné použít jiný způsob/metodu. Prosím autora, aby se s přihlédnutím na své dosud získané zkušenosti pokusil o navržení řešení tohoto problému.

V závěrečné kapitole jsou krátce shrnuty a komentovány výsledky pozorování. Bohužel, v práci chybí jakákoliv diskuse, kde by dosažené výsledky byly porovnány s informacemi z literatury, kterých opravdu není mnoho. Autor se zde krátce zmiňuje i o pozorování odhalujících se krystalů vody po dlouhodobé sublimaci preparátu. Není doložena žádná fotodokumentace.

Práce je po formální stránce slabší. Některé formulace jsou méně šťastné stylisticky nebo věcně. Autor magisterské práce R. Maroušek však zvládl metodický postup a je schopen prezentovat získané výsledky v ucelené formě. Magisterskou práci R. Marouška proto doporučuji k obhajobě.

Návrh na klasifikaci diplomové práce: **velmi dobře**

RNDr. Marie Vancová, PhD., v.r.
podpis oponenta diplomové práce

V Českých Budějovicích dne 28.1. 2008

Stupeň klasifikace:	výborně	velmi dobře	dobře	nevyhovělo
---------------------	---------	-------------	-------	------------