

# Posudek práce

předložené na Přírodovědecké fakultě JU

- posudek vedoucího       posudek oponenta  
 bakalářské práce       diplomové práce

Autor/ka: **Karolína Svobodová**

Název práce: **Vývoj konstruktů umožňujícího sledování veškerých G proteinů v buňce pomocí dvoufotonové polarizační mikroskopie**

Studijní program a obor: Biologie, biomedicínská laboratorní technika

Rok odevzdání: 2017

Jméno a tituly oponenta: **Mgr. Marcel Fuciman, Ph.D.**

Pracoviště: UFY

Kontaktní e-mail: mfuciman@prf.jcu.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

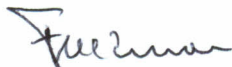
**Práci**

- doporučuji  
 nedoporučuji  
uznat jako bakalářskou.

**Navrhuji hodnocení stupněm:**

- výborně  velmi dobře  dobře  neprospěl/a

Místo, datum a podpis oponenta:  
V Českých Budějovicích, 18.5.2017



### **Slovní vyjádření, komentáře a připomínky oponenta:**

Studentka se ve své bakalářské práci zabývala vytvořením konstruktů, který by umožnil detekci aktivace G proteinů a měření lineárního dichroismu pomocí dvoufotonové mikroskopie. Za tímto účelem se pokusila ukotvit žlutý fluorescenční protein Venus na proteinový G $\beta$ /G $\gamma$  dimer pomocí zkráceného linkeru. To zahrnovalo získání DNA požadované velikosti, zbavení kohezních konců a jejich cirkularizaci s následnou transformací do buněk *E. Coli*. Z narostlých kolonií poté izolovala DNA a metodou transfekce vložila plazmidovou DNA do buněk HEK 293, na kterých poté provedla kontrolu, zda lze pomocí dvoufotonové polarizační mikroskopie pozorovat lineární dichroismus. Toto se podařilo jen z části, pouze pro G $\gamma$  podjednotku. Izolace G $\beta$  podjednotky se nezdařila a práce na její izolaci by mělo být předmětem dalšího studia. Nicméně G $\gamma$  podjednotka plasmidové DNA byla úspěšně izolována a vložena do buněk HEK 293 a pomocí dvoufotonové mikroskopie byl pozorován slabý lineární dichroismus. Byť nedošlo k 100% splnění vytyčených cílů, považuji výsledky za originální a práci doporučuji k obhajobě.

Úvod práce je napsán přehledně, rovněž tak část Cíle práce a Materiál a metody. Nicméně musím vytknout kombinování moderního a staršího psaní výrazů typu „sepharosa“ a hned vedle v té samé větě „agaroza“ (např. str. 6, oddíl 1.3.1.2), neskloňování latinských jmen (oddíl 1.3.1.1), používání žargonu typu „transfekovat“ namísto „transfikovat“ apod. Text je výrazně ovlivněn anglickou literaturou, takže se objevují slova jako „band“ (str. 19).

Obrázky a tabulky jsou uvedeny na vhodných místech, nicméně na většinu z nich není v textu odkaz (obr. 4, 6, 7, 9 – 13, tab. I – IV) nebo je špatný (na str. 19 je odkaz na obr. 8, ale na myslí má autorka pravděpodobně obr. 12).

Některé postupy, jako např. purifikace DNA by si zasloužily odkaz, např. na webové stránky výrobce, popř. manuál. (str. 16, 3), str. 17, 6) apod.)

Část Výsledky je trochu zmatečná neboť na str. 19 oddíl 2 se hovoří o úspěšném vytvoření plasmidu pro G $\gamma$  podjednotku (G $\gamma$ 2-1-155-trunc-Venus), ale popis u obr. 12 uvádí G $\gamma$ -1-154-trunc-Venus (stejně tak v diskuzi). Podobně ve výsledcích se píše o G $\beta$ 1-156-239(-trunc)-Venus, ale v diskuzi je G $\beta$ 1-155-239-trunc-Venus, takže není zřejmé, kde přesně byl fluorescenční protein předělen (rovněž obrázky na str. 13 se neshodují s textem). Předpokládám ale, že tato informace není pro práci zásadní.

Na závěr bych chtěl zmínit nejednotný formát citované literatury. Zatímco prvních 14 odkazů vyjmenovává jednotlivé autory, další už vyjmenovávají pouze jednoho autora + kolektiv (15,20), někde je dokonce kombinace několika autorů s „et al“ (16 a 18), popř. jsou autoři uvedeni 2x. (16). Vrcholí to 20. citací, kde je uvedeno, že je „manuskript v druhém kole reviews“, přitom tento článek vyšel již v roce 2011.

Přesto se domnívám, že tyto nedostatky nebrání tomu, aby studentka mohla úspěšně obhájit svou bakalářskou práci.

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

1. Jaká je opakovací frekvence femtosekundového laseru, o jaký typ popř. značku a model laseru se jedná?
2. Používáte jako elektrooptický polarizační modulátor Pockelsovu celu? S jakou frekvencí je schopna pracovat?
3. Ke zpracování obrázků získaných 2PPM používáte vlastní software nebo komerční?
4. Vysvětlíte přesněji (např. u obr. 5), co znamená, že žlutou barvou jsou znázorněny paprsky polarizovaného světla, které nedopadly kolmo na fluorofor. Znamená to, že zeleně, popř. červeně jsou znázorněny ty, které dopadají pod úhlem 0°, resp. 90°, ostatní úhly žlutě? Co znamená horizontální a vertikální směr na fluorofor? (str. 11)