

Posudek práce

předložené na Přírodovědecké fakultě JU

- posudek vedoucího
 bakalářské práce
 posudek oponenta
 diplomové práce

Autor/ka: Bc. Zdeněk Carda
Název práce: Využití simulace jako komplementární metody pro interpretaci experimentálních dat ve výzkumu fluorescence jednotlivých molekul
Studijní program a obor: Fyzikální měření a modelování
Rok odevzdání: 2017
Jméno a tituly oponenta: RNDr. Milan Durchan, CSc.
Pracoviště: ÚFY PřF JU v Českých Budějovicích
Kontaktní e-mail: durchan@umbr.cas.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

Slovní vyjádření, komentáře a připomínky vedoucího/opponenta:

Předložená diplomová práce se zabývá praktickým využitím simulací v oboru spektroskopie jednotlivých molekul. Její těžiště spočívá ve vytvoření softwaru pro simulaci Brownova pohybu v ohraničeném prostoru (koule, válec) a následné výpočty fluorescence při průchodu fluorofóru konfokálním objemem s možností simulace FRET.

Práce obsahuje (bez úvodních formálních listů) 79 stránek, je členěna do 6 kapitol. Ve stručném úvodu je dosti neoborným jazykem popsána základní interakce světla s hmotou, absorpce, fluorescence. V kap. 2 autor popisuje metody detekce fotonů emitovaných z jednotlivých molekul. Jazyk přechází v odborný, nicméně, pro určité spektrum čtenářů může být na obtíž, podle mého názoru nevhodná citační norma ISO 690, kdy i pro publikace z běžných impaktivních časopisů nenalezneme nic víc než hyperlink na elektronickou verzi na síti. Podle mého názoru by se tato nová forma citací neměla v přírodních vědách vůbec používat, vůbec – možná až na výjimky, kdy jiná možnost citování zdroje, jiný zdroj než internet, neexistuje. Nejrozsáhlejší část je kap. 3 (45 stran), kde autor popisuje po jednotlivých podkapitolách a odstavcích opravdu velké množství vlastních originálních výsledků. Zlatým hřebem diplomové práce je kapitola 4, kde je velmi stručně, přestože jde o 3,5 strany, velmi pěkně shrnuto vše, co student v průběhu magisterského studia zvládl a co se podařilo udělat. K seznamu použité literatury v kap. 5 mám již výše zmíněné výhrady, kap. 6 obsahuje seznam příloh, bohužel v magisterské práci je hojně používáno zkratk – neškodilo by v úvodu či v závěru práce dodat seznam všech zkratk.

U předkládané práce oceňuji v prvé řadě odbornou úroveň práce, originalitu výsledků a to, že simulace mají významné praktické využití pro laboratoř školitele.

Grafickou, jazykovou a formální úroveň jsem ohodnotil jako podprůměrnou, i když možná v dnešní době je již průměrná – a to z důvodu především formální úrovně: autor používá různé formy zápisu matematických funkcí (např. e^x a $\exp(x)$, str.11 a 12), řada veličin je nejednotně označena, chybí často v klíčových místech vysvětlení některých proměnných a veličin, volně se používá v českém textu nepřeložených anglických, či amerických označení (např. $\arctan x$ coby $\arctg x$), atd. atd. Když už jsem kritizoval ISO 690, pak ještě spíše ke školiteli než ke studentovi mám připomínku ohledně citování a práce s literaturou (učme studenty pracovat s vědeckými informacemi!): To, co je v obecném podvědomí, necitovat, ale uveďte (pokud je to nutné pro srozumitelnost textu) bez jakékoliv citace (práce Einsteina z roku 1905), každý pochopí, že nejde o můj výsledek, že nejde o plagiát, a staré práce si případně každý dohledá (nebylo toho v roce 1905 mnoho publikováno...). To, co není v obecném podvědomí, citovat, nicméně, citovat původní článek, aby čtenář nemusel přes několik dalších článků dohledávat to, co je předmětem citování. Autor, který ví a orientuje se v literatuře tím usnadní práci čtenářům, kterých je mnoho a ne vždy mají na síti přístup všude tam, kde vlastně ani informace – jak se posléze ukáže – ani hledat nechtějí, nemusí. Klasická nevhodná citace je na str. 15 nahoře (Rigler a spol.?). Domnívám se, že my se v přírodních vědách nemusíme obávat plagiátů (jako vědy společenské, humanitní obory), ale jako autoři bychom se měli spíše zamýšlet nad tím, aby po nás čtenáři měli co možná nejvíc usnadněnou práci ve vyhledávání klíčové informace.

Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:

Na obr. 1 na str. 2 máte neradiativní relaxaci, vnitřní konverzi a další přechody excitovaných molekul. Zeptal bych se třeba na fluorescenci z S_2 stavu, kterou v diagramu nemáte.

Práci

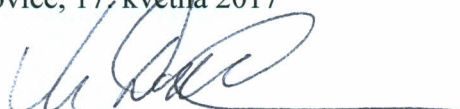
- doporučuji
 nedoporučuji
uznat jako diplomovou.

Navrhuji hodnocení stupněm:

- výborně velmi dobře dobře neprospěl/a

Místo, datum a podpis oponenta:

České Budějovice, 17. května 2017



Posudek práce

předložené na Přírodovědecké fakultě JU

- posudek vedoucího posudek oponenta
 bakalářské práce diplomové práce

Autor/ka: Bc. Zdeněk Carda

Název práce: **Využití simulace jako komplementární metody pro interpretaci experimentálních dat ve výzkumu fluorescence jednotlivých molekul**

Studijní program a obor: **Fyzikální měření a modelování**

Rok odevzdání: 2017

Jméno a tituly oponenta: RNDr. Marek Scholz, Ph.D.

Pracoviště: Přírodovědecká fakulta JU

Kontaktní e-mail: mscholz@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

Slovní vyjádření, komentáře a připomínky vedoucího/oponenta:

Cílem práce je vytvoření balíčku v jazyce Python pro simulace experimentů konfokální fluorescenční korelační spektroskopie. Je simulována Brownův pohyb souboru fluorescenčních molekul, které procházejí konfokálním objemem, a je generován časový záznam fluorescence jednotlivých molekul sestávající z fluorescenčních záblesků. Pro analýzu tohoto časového záznamu byly poté implementovány rutiny pro výpočet autokorelační funkce, FRET histogramů a metoda „Burst Variance Analysis“, která umožňuje rozlišit mezi konformačně statickými a dynamickými stavy molekul ve vzorku.

V rámci práce byla provedena řada simulací s různým experimentálním nastavením. Simulace umožňují sledovat, jak různé experimentální parametry mohou ovlivňovat výsledky měření a vést k odchylkám od teoretických modelů a potažmo nepřesnostem v interpretaci dat. Autor například na základě simulací ukazuje, jak geometrie objemu uzavírajícího fluorescenční částice ovlivňuje vypočtené experimentální parametry jako je difuzní konstanta částic. Jiným příkladem je simulace FCS-FRET experimentu, kdy se sleduje, jak frekvence konformačních změn sledovaných molekul ovlivňuje schopnost analyzovat konformační dynamiku pomocí metody „Burst Variance Analysis“. Výsledky získané pomocí simulací umožní přesnější interpretaci reálných experimentálních dat a přispějí k prozkoumání mezí použitelnosti jednoduchých teoretických modelů. Z tohoto důvodu jsou výsledky práce cenné.

Autor prokázal pochopení fyzikálních principů a experimentálních metod a byl schopen toto přenést do netriviálního zdrojového kódu, který bude i v budoucnu užitečný ve skupině single-molekulární spektroskopie. Zároveň zvládnul přizpůsobení kódu pro rychlé paralelní výpočty na výkonných počítačových klastrech.

Diplomová práce obsahuje 75 stran textu, na který navazuje seznam 33 citací zdrojů, z nichž 19 jsou odborné články nebo knihy. Práce je doplněna sedmnácti stranami příloh technického rázu a dále relativně rozsáhlým zdrojovým kódem v jazyce Python. Na prvních 26 stranách se autor věnuje teoretickému úvodu do fluorescenční spektroskopie jednotlivých molekul a blíže se zabývá metodami konfokální fluorescenční korelační spektroskopie (FCS) a měřením FRET. Zbývajících 49 stran popisuje jednotlivé provedené simulační experimenty a jejich výsledky.

Práce je napsána přehledným a srozumitelným způsobem. Z věcného hlediska nemám žádných závažných výhrad, snad jen několik drobných poznámek:

- 1) Strana 2, obr. 1: Fluorescence nebo fosforescence obvykle probíhá ze základní vibrační hladiny excitovaného stavu, protože ji předchází rychlá vibrační relaxace. Z tohoto hlediska může uvedený Jablonského diagram působit zavádějícím dojmem.
- 2) Strana 20, obr. 5: Obrázek přibližuje význam překryvového integrálu, který vystupuje ve vztahu pro rychlostní konstantu FRET. Slušelo by se ale obrázek doplnit úplnějším a přesnějším vysvětlením.
- 3) Z didaktického hlediska by asi bylo vhodné již do teoretického úvodu k představení metody FCS uvést, jak vypadá typický experimentální signál, ze kterého se poté počítá autokorelační funkce. Nezasvěcený čtenář by si pak byl lépe schopný situaci představit.

Případné otázky při obhajobě a náměty do diskuze:

- 1) Simulace předpovídá, že v případě malých objemů uzavírajících fluorofory dochází při nafitování autokorelační funkce jednoduchým modelem k nadhodnocení difuzních koeficientů. Je toto pozorováno i experimentálně?
- 2) V praktické části se uvádí, že metoda „Burst Variance Analysis“ pro rozlišení konformačně statických a dynamických stavů molekul má nízkou citlivost v případě, že se konformační změny dějí na časových škálách, které jsou výrazně delší než je průměrná doba průchodu částice konfokálním objemem. Jakým způsobem je možné v takovém případě postupovat při zkoumání těchto „pomalých“ konformačních změn?
- 3) V simulacích byly zkoumány dva různé dlouhé časové kroky a bylo ukázáno, že delší z krok 1us dává stejně dobré výsledky jako kratší krok 0.1us. Pokud by například průměrná doba průchodu částice konfokálním objemem byla 1ms, byla by délka kroku 10us nebo dokonce třeba 50us stále přípustná?
- 4) Existuje nějaká další situace/uspořádání, které by bylo zajímavé v budoucnu studovat pomocí vytvořeného balíčku?

Práci

- doporučuji
 nedoporučuji
uznat jako diplomovou.

Navrhuji hodnocení stupněm:

- výborně velmi dobře dobře neprospěl/a

Místo, datum a podpis oponenta: V Českých Budějovicích, 9.5.2017

