



Přírodovědecká
fakulta
Faculty
of Science

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

Oponentský posudek na bakalářskou diplomovou práci

Jméno studenta: Kristýna Sládková

Název práce: Elektrofyzilogické studie geneticky kódované fluorescentní sondy napětí ArcLight

Vedoucí práce: Mgr. Josef Lazar, Ph.D.

Oponet: Mgr. Hana Sehadová, Ph.D.
Afiliace oponeta: Institute of Entomology, Biology Center Czech Academy of Sciences, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice, Czech Republic

Předkládaná bakalářská práce je zaměřena na objasnění mechanismu funkce konstruktů ArcLight, který umožňuje monitorovat změnu elektrického potenciálu v savčích nervových buňkách pomocí optické mikroskopie. Konstrukt vznikl fúzí fosfatázy citlivé na elektrické napětí s geneticky modifikovaným zeleným fluorescenčním proteinem citlivým na změnu pH. Studium kinetiky odpovědi fluorescenčního signálu na změnu membránového potenciálu v závislosti na koncentraci konstruktů odhalilo, že dochází pouze k takovým změnám konformace fluorescenčních proteinů, které nevyžadují jejich dimerizaci. Během práce s buněčnými kulturami autorka úspěšně zvládla řadu metod molekulární biologie. Rovněž si osvojila techniky buněčné elektrofyzilogie a fluorescenční mikroskopie spojené s analýzou fluorescenčního signálu.

Vlastní práce obsahuje 41 stran. Skládá se z anotace, úvodu, literárního přehledu, části materiál a metody, vlastních výsledků, diskuze, závěru a seznamu použité literatury. Velice obsáhlý literární úvod (23 stran) učebnicovou formou předkládá širokou škálu poznatků o struktuře buněčné membrány, fyziologii nervové soustavy, principech fluorescenční mikroskopie a metodách zkoumání membránového potenciálu. Široký tematický záběr takovéto rešerše odvádí pozornost čtenáře od vlastního tématu. Občasně se v textu objevují slovní spojení a obraty typické spíše pro anglický jazyk, které na druhou stranu svědčí o schopnostech autorky samostatně pracovat s odbornou cizojazyčnou literaturou.

K předkládané bakalářské práci mám následující připomínky a dotazy a prosím autorku o jejich komentář:


1. Při hodnocení výsledků autorka uvádí, že časová změna fluorescence konstruktů ArcLight jednotlivých buněk v závislosti na měnícím se elektrickém potenciálu byla analyzována a statisticky vyhodnocena v programu ImageJ. Při zpracování výsledků chybí statistické údaje. Kolik buněk z kolika transfekčních klonů bylo testováno?
2. Dovede autorka vysvětlit jakou veličinu měří program ImageJ při stanovení intenzity fluorescence?

3. Byla koncentrace ArcLight konstruktů v buňkách stanovena i jiným způsobem než měřením intenzity fluorescence před aplikací elektrického impulsu?
4. Jakým způsobem byla udržována konstantní teplota během časového snímání fluorescenčního signálu?
5. Při objasnění principu fosforescence v literárním úvodu str.11 je uvedeno, že fosforescenci nelze běžně sledovat při pokojové teplotě. Může autorka objasnit proč tomu tak je?

I přes uvedené nedostatky předložená práce řeší stanovený cíl, rovněž po formální stránce splňuje veškeré požadavky kladené na bakalářskou diplomovou práci, proto ji doporučuji k obhajobě.

V Českých Budějovicích dne 12.1.2018

Hana Sehadová


.....
podpis