

I. IDENTIFIKAČNÍ ÚDAJE

Název práce:	Studium fázových přechodů vybraných materiálu pro kryokultivaci a kryoprezervaci buněk.
Jméno autora:	Bc. Vojtěch Hubka
Typ práce:	diplomová
Fakulta/ústav:	Fakulta elektrotechnická (FEL)
Katedra/ústav:	Katedra teorie obvodů
Oponent práce:	RNDr. Luděk Šefc, CSc.
Pracoviště oponenta práce:	1. lékařská fakulta UK, Centrum pokročilého preklinického zobrazování

II. HODNOCENÍ JEDNOTLIVÝCH KRITÉRIÍ

Zadání	mimořádně náročné
<i>Hodnocení náročnosti zadání závěrečné práce.</i>	
Vložte komentář. Jedná se o téma na hranici biologie a fyziky, použité metody patří k velmi sofistikovaným a náročným na zvládnutí i interpretaci.	

Splnění zadání	splněno
<i>Posuďte, zda předložená závěrečná práce splňuje zadání. V komentáři případně uveďte body zadání, které nebyly zcela splněny, nebo zda je práce oproti zadání rozšířena. Nebylo-li zadání zcela splněno, pokuste se posoudit závažnost, dopady a případně i příčiny jednotlivých nedostatků.</i>	
Práce splňuje zadání.	

Zvolený postup řešení	vynikající
<i>Posuďte, zda student zvolil správný postup nebo metody řešení.</i>	
Použité metody jsou plně adekvátní.	

Odborná úroveň	A - výborně
<i>Posuďte úroveň odbornosti závěrečné práce, využití znalostí získaných studiem a z odborné literatury, využití podkladů a dat získaných z praxe.</i>	
Vložte komentář. Práce vykazuje vysokou odbornou úroveň. Mírné nedostatky v jejím formálním zpracování zřejmě souvisejí s dosud malou zkušeností s publikačními pravidly, nutností promyšlené struktury předkládaného textu a významnosti formální logiky při psaní odborných textů. Celkově považují práci za velmi kvalitní.	

Formální a jazyková úroveň, rozsah práce	B - velmi dobře
<i>Posuďte správnost používání formálních zápisů obsažených v práci. Posuďte typografickou a jazykovou stránku.</i>	
<i>Formální úroveň:</i> Práce by měla být jednoznačněji rozdělena do částí, požadovaných pro publikaci výsledků (Úvod, Metody, Výsledky a Diskuze). Zde občas prolínají výsledky s metodami i diskuzí. Měly by být sjednoceny použité jednotky (nemíchat mM, mmol/ml, w/w%, např. str. 38-39). Při porovnávání grafů je vhodné použít stejné rozsahy os (Obr. 11a a 11b). Pokud je použita stejná struktura měření na různých vzorcích, měla by mít i stejnou prezentaci výsledků (viz Viabilita vzorků – celkem 3 odlišné způsoby zhodnocení).	
<i>Jazyková úroveň:</i> Práce by zasloužila před konverzí do pdf projít kontrolou pravopisu – takto zůstaly některé pravopisné chyby a překlepy. Hygroskopický není totéž jako hydrokopický.	
<i>Rozsah práce:</i> práce je rozsáhlá a představuje významné množství experimentálních dat.	

Výběr zdrojů, korektnost citací	B - velmi dobře
<i>Vyjádřete se k aktivitě studenta při získávání a využívání studijních materiálů k řešení závěrečné práce. Charakterizujte výběr pramenů. Posuďte, zda student využil všechny relevantní zdroje. Ověřte, zda jsou všechny převzaté prvky řádně odlišeny od vlastních výsledků a úvah, zda nedošlo k porušení citační etiky a zda jsou bibliografické citace úplné a v souladu s citačními zvyklostmi a normami.</i>	

Práce obsahuje 34 citací, které jsou vhodně vybrány. Odkazy na citované práce jsou relevantní. Bylo by však potřeba zkontrolovat úplnost citací a sjednotit jejich formát.

Další komentáře a hodnocení

Vyjádřete se k úrovni dosažených hlavních výsledků závěrečné práce, např. k úrovni teoretických výsledků, nebo k úrovni a funkčnosti technického nebo programového vytvořeného řešení, publikačním výstupům, experimentální zručnosti apod.

Vložte komentář (nepovinné hodnocení).

III. CELKOVÉ HODNOCENÍ, OTÁZKY K OBHAJOBĚ, NÁVRH KLASIFIKACE

Shrňte aspekty závěrečné práce, které nejvíce ovlivnily Vaše celkové hodnocení. Uveďte případné otázky, které by měl student zodpovědět při obhajobě závěrečné práce před komisí.

Diplomová práce má 69 stran, obsahuje 34 relevantních citací. Provedené experimenty mají logickou strukturu a předkládají ucelený pohled na studovanou problematiku. Mírně je podceněná formální stránka prezentace (jasné členění, dodržování stejných pravidel pro prezentaci v různých částech, jazyková korektura, formát citací), nicméně tyto nedostatky pramení z nezkušenosti studenta s rigorózní strukturou vědecké publikace a nesnižují vědeckou úroveň práce. K práci mám následující malé připomínky:

- Str. 21, Obr. 32: záměna Q3 a Q4 v obrázku a legendě. Oblast označená v obrázku Q4 obsahuje živé buňky a Q3 časně apoptotické buňky. Navíc oblast Q2 obsahuje pozdně apoptotické i nekrotické buňky. Nekrotická buňka má porušenou membránu (permeabilizovanou) a Annexin V se může tak vázat na PS na vnitřní straně membrány, což cytometr nerozliší od vnějšího umístění. Nekrotické buňky tedy jsou především AnnV+/Hoe+. Odlišit pozdně apoptotické buňky od nekrotických je poměrně obtížné a vyžaduje použití více metod. Větší část buněk v Q1 pochází z autofluorescenčního pásu (pravděpodobně buněčné debris) táhnoucího se z Q4 přes Q1 do Q2. Navíc obrázek není dostatečně vykompenzován (mediány Q3 a Q2 by měly být shodné). Tuto připomínku však nekladu k tíži studenta, protože průtoková cytometrie patří mezi složité metody biologického výzkumu (instrumentálně i interpretačně) a vyžaduje mnoholeté zkušenosti. Navíc tyto chyby se vyskytují i v odborné literatuře.
- Str. 30. Viabilita buněk. „Koncentrace DMSO nižší než 10 w/w% nejsou cytotoxické [15]“ Pozor na takové závěry – je nutné stanovit toxicitu pro použité buňky, může se výrazně lišit od buněk v publikaci. Některé buňky citlivě reagují již na 1-2% DMSO.
- Str. 38: Měření viability buněk s trehalózou. Doporučoval bych i kontrolní inkubaci buněk s trehalózou, protože expozice buněk zvýšenému onkotickému tlaku může vyvolat aktivaci mechanismů buněčné smrti.

Pokládám tyto otázky k zodpovězení:

1. Na straně 29: XRD. V Obr. 10 klesá difrakce DI vody (ledu) v rozmezí -5°C – 0°C, tedy dříve, než dochází k tání. Jaké pro to máte vysvětlení?
2. Str. 59: „Zmražení buněk v roztoku bez přidání kryoprotektiv způsobilo nekrózu velké většiny testovaných buněk“. Obr. 18 ukazuje, že přežilo 7,6% buněk. Vysvětlujete to kryoprotektivním působením séra. Zkusili jste to porovnat se zamražením ve fyziologickém roztoku bez séra? Studovali jste blíže vlastnosti těchto buněk a zkusili jste je znovu zamrazit, jestli nedošlo k selekci rezistentnějších buněk?
3. Str. 63: „Životaschopnost mražených buněk korelovala se stupněm kondenzace chromatinu“. Jedná se pouze o konstatování stejného vývoje odpovědi na rozmrazení nebo byla provedena korelační analýza?

Předloženou závěrečnou práci pokládám za velmi zdařilou a hodnotím klasifikačním stupněm **A - výborně**.

Datum: 6.6.2016

Podpis: