*Diplomová práce:* **Využití fluorescenčních technik k hodnocení buněčného poškození**

*Autor:* Bc. Jan Č a p e k

*Vedoucí diplomové práce:* doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.

Fluorescenční techniky jsou díky své specifitě a senzitivitě stále více využívány také k detekci daných biochemických pochodů, popř. poškození buněk. Pro tento účel jsou syntetizovány a na trh uváděny nové fluorescenční intracelulární sondy. V současné době jsou k dispozici například sondy pro detekci membránového potenciálu mitochondrií, apoptózy, produkce volných kyslíkových radikálů, či změn kondenzace chromatinu. Zavedení těchto metod a u vybraných sond jejich následné použití v podmínkách *in vitro* bylo i náplní předkládané diplomové práce.

Plánovanými cíli diplomanta Bc. Jana Čapka byla optimalizace použití celkem čtyř typů fluorescenčních sond u buněčných linií. K detekci fluorescence diplomant využíval jak fluorescenční mikroskop s analýzou obrazu, tak i destičkový spektrofluorimetr, jenž umožňoval jasně kvantifikovat daný fluorescenční signál. Po zavedení všech potřebných stanovení byly dané sondy nakonec využity ke kvalitativnímu zhodnocení buněčného poškození v podmínkách *in vitro*. Hlavním výstupem celé práce bylo kromě nalezení optimálních podmínek pro použití dané sondy také jasné porovnání jejich specifity, stability popř. senzitivity při buněčném poškození. Z tohoto pohledu má práce studenta velmi významný potenciál pro využití v další laboratorní výzkumné praxi i u něho samého v rámci plánovaného postgraduálního studia.

Při řešení diplomové práce se diplomant seznámil s principy fluorescenční mikroskopie, spektrofluorimetrie a jejich využitím při práci s buňkami značenými pomocí fluorescenčních sond. Student během práce pracoval precizně a samostatně a je důležité také vyzdvihnout jeho velmi aktivní přístup ke studiu dané problematiky, stejně jako k plánování experimentů a jejich vyhodnocování. Diplomová práce, jež byla navíc řešena v rámci Studentské vědecké činnosti, je členěna dle klasického schématu, rozsah je dle mého názoru zcela dostatečný, text je sepsán přehledně a je přiměřeně doplněn obrázky, grafy, tabulkami a citacemi. Tyto citace pocházejí převážně z recentních zahraničních článků, v porovnání k nimž diplomant své výsledky i vhodně diskutuje.

Diplomová práce Bc. Jana Čapka zcela splňuje všechny původně kladené cíle, celkově ji považuji za vynikající a **doporučuji ji k obhajobě**.

Mé celkové závěrečné hodnocení celé práce je: **výborně**

V Pardubicích 25.5.2015

*doc. RNDr. Tomáš Roušar, Ph.D.*