

Diplomová práce: **Optimalizace podmínek kultivace potkaních hepatocytů *in vitro***

Autor: Bc. Hana Rajhelová

Vedoucí diplomové práce: Mgr. Tomáš Roušar, Ph.D.

Zajištění optimálních podmínek pro kultivaci buněk je zcela zásadní pro získání věrohodných výsledků při práci s buněčnými kulturami. V odborné literatuře bylo dosud publikováno jen několik prací, které by se zabývaly testováním vlivu kultivačních podmínek na viabilitu buněk, a proto bylo téma této diplomové práce zaměřeno právě tímto směrem.

Hlavním cílem práce bylo otestování hypotézy, zda kultivační podmínky, tzn. doba přisednutí buněk, objem kultivačního média, mohou významně ovlivnit viabilitu kultivovaných buněk. Jako modelový materiál byly použity primární kultury potkaních hepatocytů, a to jak hepatocyty intaktní, tak i inkubované s modelovým toxinem, *tert*-butylhydroperoxidem.

V průběhu řešení diplomové práce se diplomantka detailně seznámila s postupem izolace potkaních hepatocytů a jejich následným zpracováním. Bc. Hana Rajhelová se také naučila technikám kultivace, počítání buněk a stanovení viability čerstvě izolovaných hepatocytů. V návaznosti na to dále pracovala na optimalizaci metod určených k testování viability kultivovaných buněk (stanovení aktivity laktátdehydrogenasy a WST-1 test). Přes počáteční problémy při práci s buňkami se diplomantka nakonec s tímto složitým biologickým materiálem naučila pracovat přesně. Výsledky, kterých bylo dosaženo, jsou velmi zajímavé a dávají podklad pro další, detailnější studium této problematiky.

Rozsah předložené práce je 63 stran. Text je vhodně doplněn obrázky, grafy a tabulkami. Autorka v textu uvádí celkem 47 citací, které čerpala v převážné míře ze zahraničních recenzovaných odborných periodik; tyto reference jsou uvedeny v souladu s citačními normami. Práce je rozčleněna dle klasického schématu, kde jsou v teoretické části popsány: funkce a stavba jater, podrobný přehled metod pro izolace hepatocytů, testů viability a nakonec i princip toxického působení tBHP. Následuje experimentální část, výsledková část s diskuzí a závěr. Celá práce je sepsána srozumitelně, v textu se objevuje pouze několik formálních chyb.

Diplomová práce Hany Rajhelové splňuje původně kladené cíle, celkově ji považují za zdařilou a **doporučuji ji k obhajobě.**

Závěrečné hodnocení: **výborně - M**



V Pardubicích 25.5.2009

Mgr. Tomáš Roušar, Ph.D.