

## OPONENTSKÝ POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

Název práce: **Analýza biologicky významných molekul pomocí imunoluminiscenční mikroskopie**

Autor práce: **Bc. Lucie Šenková**

Vedoucí práce: **doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.**

Oponent: **Mgr. Barbora Jankovičová**

Předložená diplomová práce studentky **Lucie Šenkové** se zabývá přípravou imunofluorescenčních sond určených pro značení vybraných biologicky významných molekul a jejich následnou detekcí pomocí fluorescenční mikroskopie.

Teoretická část je zpracována přehledně a věnuje se základům a principu fluorescence, popisuje fluorescenční mikroskopii a její jednotlivé modifikace, principy kapilární elektroforézy a afinitní chromatografie a v neposlední řadě je uveden přehled imunofluorescenčních sond spolu s metodami jejich syntézy. V experimentální části jsou podrobně popsány metodické postupy, které si studentka zvládla osvojit v rámci této diplomové práce, zahrnující různé techniky konjugace, přes následné vazby na připravené konjugáty, až po vlastní značení cílových molekul v reálných vzorcích. Ve výsledkové a diskusní části jsou podrobně interpretovány získané výsledky, které jsou doloženy formou tabulek, grafů a obrázků.

Diplomová práce obsahuje 81 citací, včetně odkazů na různé internetové zdroje, které jsou zpracovány podle citačních norem. Rozsah práce je 102 stran. Práce je napsána stylisticky dobře a čtivě. Nevyskytují se zde hrubé pravopisné chyby, ale je zde zbytečně hodně překlepů, kdy chybí nebo přebývá písmeno (např. viskozit – viz. Seznam použitých zkratk, persíra amonný – str. 56, episfluorescenční – str. 18, aminokyslečinami – str. 33, metamfetamin – str. 29), popř. je nesprávné pořadí písmen ve slově (např. anti-ovalbuminové IgG – str. 43), což může být přisuzováno nepozornosti při rychlém psaní textu. V textu by dále mělo být sjednoceno používání *s/z* ve slovech např. myozin (str. 18) vs. plasmový (str. 22) a dále pak používání mezer mezi odstavci (např. viz. str. 18).

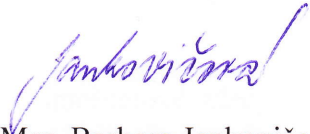
K diplomové práci mám pár drobných připomínek a dotazů.

- 1) Není správně vysvětlena zkratka BCA, jedná se o kyselinu bichoninovou, nikoliv bichoninikovou jak je uvedeno, zkratku ELISA by bylo vhodnější vysvětlit českým ekvivalentem označení.
- 2) Je použito duplicitně označení kapitol 2.5.4 (2.5.4 Zeleně fluoreskující protein a 2.5.4 Kvantové tečky), toto označení se vyskytuje jak v obsahu tak i ve vlastním textu na str. 33 a 34.
- 3) V textu je použito několik různých označení pro použité magnetické mikročástice: SiMAG, SiMag (4.2 – Obsah), Si-MAG (str. 48).
- 4) Je nesprávně používán zápis Autor et. al (např. str. 36) - místo Autor *et al.*
- 5) Nesprávně je také použit výraz tenší (str. 19) místo tenčí, výraz biomedicíální (str. 24, 36, 40) by bylo vhodnější nahradit výrazem biomedicínský, a spojení na str. 33: viditelný *pod* ozářením nahradit spojením viditelný *při* ozářením. Na několika místech v textu se také vyskytuje nesprávný zápis: .....text .[X]. (str. 30, 37).
- 6) V kapitole 4.2 experimentální části je popisována konjugace anti-ovalbuminu na magnetické částice SiMAG-hydrazid, chybí zde údaj o použitém množství částic.
- 7) U popisu dodávající firmy Sigma-Aldrich je nesprávně užíváno St. Luis (např. str. 48) místo St. Louis.

- 8) U grafu č. 1 jsou nesprávně uvedeny jednotky u koncentrace na ose x, místo mg/ml by mělo být  $\mu\text{g/ml}$ .
- 9) Při ověřování množství navázaných anti-ovalbuminových protilátek na magnetické částice v kapitole 5.1 je uveden BCA test jako metoda pro zjištění kvantitativního množství nenavázaného anti-ovalbuminu, je zahrnuta i kalibrační křivka pro výpočet ale nejsou zde uvedeny žádné vypočítané hodnoty, proč?
- 10) V kapitole 5.2 popisující vazbu ovalbuminu na připravený konjugát by bylo vhodnější při SDS-PAGE detekci nanášet originální vzorek ovalbuminu na gel společně se supernatantem po vazbě, aby bylo možné porovnat případný úbytek ovalbuminu po vazbě.
- 11) Pro fluorescenční značení apoptotických lidských lymfocytů byly použity tři postupy, v kapitole 5.6.1 je popisován třetí postup jako nejlepší, ráda bych se studentky zeptala, čím si tento fakt vysvětluje?
- 12) Dále mám dotaz, zda a případně jakým způsobem je ověřována účinnost modifikace (tj. množství zavedených hydrazidových skupin) QD pomocí ADH?

Práce splňuje stanovené cíle zadání. Přestože výsledky získané při značení reálných vzorků bude potřeba ještě dále optimalizovat, je diplomová práce přínosem v daném výzkumu a výše uvedené připomínky a nedostatky jsou většinou formální a výrazně nesnižují její kvalitu. Proto hodnotím **výborně – M**.

V Pardubicích 21.5.2010

  
Mgr. Barbra Jankovičová