

Ústav analytické chemie AVČR  
Oddělení bioanalytické instrumentace  
Veveří 97  
602 00 Brno  
klep@iach.cz

Posudek diplomové práce Bc. Lucie Šenkové

Diplomová práce Bc. Lucie Šenkové „Analýza biologicky významných molekul pomocí imunofluorescenční mikroskopie“ byla součástí výzkumného projektu Oddělení bioanalytické instrumentace Ústavu analytické chemie AVČR, který je věnován aplikaci nanotechnologií ve funkční diagnostice apoptotických a nádorových buněk. Práce byla zaměřena na prověření metodiky a instrumentace imunofluorescenční detekce některých molekul pro účely fyziologického výzkumu a molekulární diagnostiky. V této souvislosti chci tedy zdůraznit, že teoretická i experimentální část řešení uvedené problematiky neměla charakter rutinní práce, ale byla vyhledávacím výzkumem s předem neznámými výsledky. To kladlo značné nároky na správnou volbu a vyhodnocení experimentů. Uchazečka pracovala na tomto projektu po dobu více než 18 měsíců. Svědomitě se věnovala řešení svěřených úkolů, pracovala samostatně a prokázala adekvátní znalosti studované problematiky. Naučila se metodiku syntézy imunofluorescenčních sond, zvládla instrumentaci deskové gelové elektroforézy, kapilární elektroforézy a fluorescenční mikroskopie.

Optimalizovala metodiku přípravy imunofluorescenčních sond konjugací polovodičových nanočástic (kvantových teček) s protilátkami a antigeny. Imobilizovala anti-ovalbumin na magnetické částice pomocí tzv. orientované metody. Pro ověření výtěžku imobilizačních a konjugačních reakcí použila denaturační deskovou elektroforézu, kapilární elektroforézu s detekcí laserem indukované fluorescence a fluorescenční mikroskopii. Na modelovém systému protilátka - antigen prověřila možnost vysoce citlivé imunofluorescenční

analýzy pomocí kapilární elektroforézy ve volném elektrolytu. Detekovala lidské apoptotické lymfocyty a apoptotické buňky tkáně myšního duodena. Mohu tedy konstatovat, že stanovené cíle diplomové práce byly bezzbytku splněny.


Po stránce obsahové jsou v práci uvedeny všechny relevantní údaje o teoretických principech, metodice analýz a jejich experimentálním uspořádání. Výsledky jsou jasně demonstrovány pomocí tabulek, záznamů separací a snímků pořízených CCD kamerou fluorescenčního mikroskopu. Závěry práce jsou sice kompletní, ale postrádám názor na možnosti použití imunofluorescenčních testů v současné klinické praxi a požadavky na další výzkum v této oblasti. Formální úroveň práce je poznamenána některými nepřesnými formulacemi, občasným používáním laboratorního žargonu nebo gramatickými chybami.

V přehledu literatury jsou uvedeny publikace zahrnující všechny teoretické i praktické informace nutné pro práci na tomto projektu. K dodržení formální stránky přehledu literatury se nemohu vyjádřit, protože jsem nebyl seznámen s citačními normami platnými pro diplomové práce na Univerzitě Pardubice.

Závěrem konstatuji, že vzhledem k výše uvedeným skutečnostem jednoznačně doporučuji diplomovou práci Bc. Lucie Šenkové k obhajobě a hodnotím ji známkou

velmi dobře.

V Brně 12. května 2010

  
Ing. Karel Klepárník, CSc.  
odborný konzultant