

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

Posudek diplomové práce Bc. Anety Šmerdové

Diplomová práce Bc. Anety Šmerdové „Syntéza imunofluorescenčních sond pro analýzu významných biologických molekul“ 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 zdůraznit, že teoretická i experimentální část řešení uvedené problematiky neměla charakter rutinní práce, ale byla vyhledávacím výzkumem s předem neznámými výsledky. Uchazečka tedy musela často zvolit další postup řešení na základě správného vyhodnocení předcházejících výsledků. 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 metodice syntézy imunofluorescenčních sond, zvládla instrumentaci kapilární elektroforézy a hmotnostní spektrometrie s elektrosprejem.

Optimalizovala metodiku přípravy imunofluorescenčních sond konjugací polovodičových nanočástic (kvantových teček) s protilátkami a antigeny. Pro ověření úspěšnosti tří typů konjugačních reakcí použila kapilární elektroforézu s detekcí laserem indukované fluorescence, hmotnostní spektrometrii a fluorescenční mikroskopii. Na modelovém systému protilátka - antigen prověřila možnost vysoce citlivé imunofluorescenční analýzy pomocí kapilární

elektroforézy ve volném elektrolytu. Pomocí fluorescenční mikroskopie pak identifikovala membránový protein CD3 na lidských T-lymfocytech. Stanovené cíle diplomové práce tedy bezzbytku splnila.

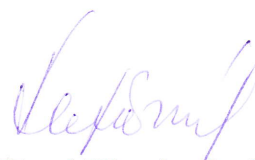
Po stránce obsahové jsou v práci uvedeny všechny relevantní údaje o teoretických principech, metodice analýz a jejich experimentálním uspořádání. Výsledky jsou jasně demonstrovány pomocí tabulek, záznamů separací, hmotnostních spekter a snímků pořízených CCD kamerou fluorescenčního mikroskopu. Zejména v části 5.3.1 je však diskuse výsledků měření nedostatečná. Výsledky uvedené na některých obrázcích nejsou v textu vůbec zmíněny. Závěry jsou vyčerpávající a dokazují splnění stanovených cílů práce. Postrádám však souhrnný názor na současný stav a možnosti imunofluorescenčních analýz včetně výhledu dalšího pokračování výzkumu v této oblasti. Celková úroveň práce je poznamenána celou řadou nepřesných a zavádějících formulací (diskuse k obr. 14 a 15, část 2.6 a jiné) nebo občasnými 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. Anety Šmerdové k obhajobě a hodnotím ji známkou

velmi dobře.

V Brně 12. května 2010



Ing. Karel Klepárník, CSc.

odborný konzultant