



Posudek vedoucího diplomové práce

Název diplomové práce: **Zavedení blotovacích technik pro detekci biomarkerů Alzheimerovy choroby**

Autor práce: **Bc. Jitka Kašparová**

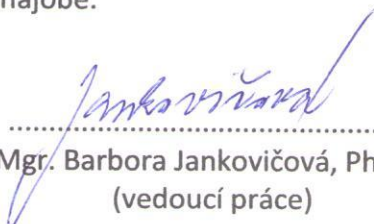
Tématem diplomové práce byla detekce biomarkerů Alzheimerovy choroby (AD), konkrétně β -amyloidních peptidů a Tau proteinu. Cílem bylo zavést a optimalizovat metodu dot-blot a western-blot v kombinaci s 1-D popř. 2-D SDS-PAGE separací, tak aby bylo dosaženo dostatečné citlivosti pro detekci zmíněných biomarkerů v biologickém materiálu jako je mozkomíšní mok popř. sérum.

V teoretické části autorka shrnula základní informace o Alzheimerově chorobě zahrnující přehled významných biomarkerů a diagnostických přístupů, detailně popsala poruchy degradace proteinů, které souvisí s patogenezí choroby, a nakonec zpracovala přehled separačních a analytických metod používaných pro detekci biomarkerů AD, včetně metod elektroforetických a imunoblottingu. Téma je zpracováno přehledně a srozumitelně a studentka k tomu použila 120 převážně zahraničních literárních zdrojů, jejichž přehled je v práci zpracován podle citačních norem.

V experimentální části je uvedena metoda dot-blot kombinovaná s několika technikami kolorimetrické či chemiluminiscenční detekce, pro kterou bylo optimalizováno ředění protilátek a stanovovala se citlivost detekce s použitím rekombinantních antigenů (A β peptidu (1-42) a Tau proteinu-441), dále pak postup stanovení afinity monoklonálních protilátek pomocí metody dot-blot, příprava rozvolněného a štěpeného Tau proteinu, optimalizace podmínek separace biomarkerů při 1-D a 2-D SDS-PAGE a nakonec western blot analýza. Veškeré výsledky jsou v práci jasně a přehledně prezentovány. Studentce se podařilo pomocí techniky dot-blot s chemiluminiscenční detekcí prokázat β -amyloidní peptidy v mozkomíšním moku a kombinací 2-D elektroforézy s chemiluminiscenční imunodetekcí pak také Tau protein. Při řešení dílčích úkolů studentka projevila ohromnou samostatnost a zájem o danou problematiku. V laboratoři pracovala pečlivě a s rozvahou a při vyhodnocování experimentů prokazovala schopnost samostatného úsudku.

Práce obsahuje všechny náležitosti, její rozsah je 163 stran a po stránce obsahové i formální má velmi dobrou úroveň. Všechny dílčí úkoly zadání diplomové práce byly splněny a práci proto hodnotím známkou **výborně** a **doporučuji** ji k obhajobě.

V Pardubicích dne 23.5.2014


Mgr. Barbora Jankovičová, Ph.D.
(vedoucí práce)