

Stanovisko školitele MUDr. Pavla Šnajdra k diplomové práci Bc. Markéty Pleschnerové

Předložená práce obsahuje 87 stran včetně obsahu, seznamu literatury, seznamu zkratk a příloh.

Práce je členěna obvyklým způsobem na základní kapitoly Úvod, Současný stav řešené problematiky, Cíl práce, Experimentální část s popisem použitých metod, Výsledky, Diskuse a Závěr. Kapitoly jsou dále přehledně děleny na číslované podkapitoly. Souhrn v češtině a angličtině přináší výsledky a závěry získané v experimentální části práce.

Diplomantka se tématu věnovala velmi podrobně a při zpracování vycházela z dostupné literatury a výsledků, jež získala během své práce v Laboratoři molekulární embryologie na Anatomickém ústavu I.LF UK, kde byla také několik let zaměstnána jako laborantka a poté jako odborná pracovnice.

Cílem práce bylo testování nově připravené anti c-Myb protilátky pro použití v biomedicíně výzkumu.

V první, teoretické, části práce jsou popsány obecné aspekty imunologických metod a *in situ* hybridizace nukleových kyselin (ISH), včetně faktorů, které mohou ovlivnit úspěšnost těchto metod.

V experimentální části práce jsou popsány jednotlivé kroky testování protilátky.

1. Byla ověřena specifita protilátky s antigenem pomocí metody western blot.
2. Byla ověřena použitelnost protilátky pro imunocytochemii.
3. Použitím metody *in situ* hybridizace mRNA a srovnáním jejích výsledků s dostupnou literaturou byly vytipovány tkáně, ve kterých by měl být protein přítomen a tedy protilátkou detekovatelný.
4. Byla ověřena použitelnost protilátky pro imunohistochemii, byly porovnány její výsledky s výsledky ISH. Byly porovnány různé metody fixace tkáně, použití různých postupů zpřístupnění antigenu a použití amplifikace reakce pomocí avidin-biotin komplexu.

Výsledky jsou prezentovány barevnými obrázky s vysvětlením metodických rozdílů. Všechny pro imunohistochemii použité varianty přehledně shrnuje tabulka na str. 59.

V kapitole Diskuse jsou výsledky porovnány s publikovanými údaji a je diskutován rozdíl mezi daty získanými metodou ISH a pomocí imunohistochemie.

Práce je sepsána pečlivě a přehledně, bez jazykových a formálních chyb. Cíle, závěry i diskuse jsou srozumitelně formulovány.

Z formálního, jazykového i obsahového hlediska odpovídá práce stanoveným cílům, neobsahuje žádné závažné chyby ani nepřesnosti. Výsledky této práce budou dále použity v práci naší laboratoře.

DOPORUČUJI, aby se práce stala předmětem obhajoby.
Navrhovaná známka – výborně.

V Praze dne 5.9. 2007


MUDr. Pavel Šnajdr
Anatomický ústav I.LF UK