

Oponentský posudek bakalářské práce.

Název práce: Optimalizace metody inkorporace molekul značené DNA do savčích buněk za účelem přípravy vzorků pro "in cell" spektroskopická měření na jednotlivých molekulách.

Autor práce: Markéta Wachtlová

Vedoucí práce: prof. RNDr. František Vácha, PhD.

Datum a místo vypracování bakalářské práce: České Budějovice 2011

Shrnutí bakalářské práce

Cílem hodnocené bakalářské práce bylo zavést a optimalizovat metodiku přípravy vzorků savčích HeLa a CHO buněk obsahujících ve vnitrobuněčném prostoru fluorescenčně značené oligonukleotidy. Tato metodika pak bude následně využívána pro přípravu vzorků pro experimenty využívající metodu fluorescenční spektroskopie jednotlivých molekul.

Poznámky k předložené práci

5.2.1 Práce s buněčnými kulturami HeLa a CHO (Optimalizace pěstování buněk na krycích sklech.)

Připomínka:

Jaké parametry byly optimalizovány při pěstování buněk na krycích sklech, snad objem nanesení buněčné kultury nebo délka kultivace, teplota.

Co jsou a proč byly připravovány trvalé preparáty?

Fixace buněk na krycím skle – příprava trvalých preparátů

Cituji:

Po oschnutí byla fixována chlazeným methanolem (-20 °C) po dobu 10 minut.

Připomínka

Jaký je princip fixace chlazeným methanolem? Jedná se o standardní postup nebo je vlastním nápadem autorky.

5.2.2 Transfekce buněk

Cituji:

Mezitím bylo smícháno 15 µl Escort™ Transfection Reagent s 5 µl DNA o dané koncentraci a 230 µl DMEM (CHO buňky)/ RPMI (HeLa buňky) média bez suplementů.

Připomínky:

V textu se často uvádí, že bylo přidáno, smícháno atd, určité množství DNA, podle všeho se jedná o značený oligonukleotid. Oligonukleotid nelze zaměňovat s DNA.

Co jsou suplementy? Nikde není vysvětleno co je suplement.

Hodnocení práce

Z předložené bakalářské práce je zřejmé, že projekt vyžadoval od Markéty Wachtlové aktivní zvládnutí, řady laboratorních postupů a metod. Hlavní cíle předložené bakalářské práce, tedy porovnat dvě místně dostupné metody inkorporace fluorescenčně značených oligonukleotidů do savčích HELA a CHO buněk a najít optimální podmínky, za nichž je tato inkorporace efektivní a umožňuje tak v budoucnu reprodukovatelně získávat vzorky těchto buněk byly beze zbytku splněny. Práce splňuje všechny požadavky kladené na bakalářskou práci a proto ji doporučuji uznat jako bakalářskou práci s hodnocením výborně.

V Českých Budějovicích 20. ledna 2011

RNDr. František Adamec, CSc.

