

Posudek školitele k obhajobě magisterské práce Denisy Martykánové

Ve své magisterské práci Denisa navázala na bakalářskou práci, kterou byl literární přehled o možnostech vícenásobného imunoznačení v skenovacím elektronovém mikroskopu s autoemisní tryskou. Tématem magisterské práce bylo najít nové markery pro vícenásobnou lokalizaci ve FE SEM. Toto téma vyplynulo z grantového projektu „Nové nanočástice pro ultrastrukturální diagnostiku“, který se od roku 2007 řešil v Laboratoři elektronové mikroskopie.

Pro úspěšné zvládnutí dílčích cílů v rámci řešené problematiky musela Denisa zvládnout poměrně široké spektrum laboratorních postupů potřebných pro konjugaci Pd nanočástic s protilátkami a i práci s transmisním a skenovacím elektronovým mikroskopem, aby mohla vyhodnotit výsledky konjugace nebo určit distribuci velikosti dodaných Pd nanočástic. Na druhé straně navazovala na předchozí výsledky v LEM, ze kterých již bylo zřejmé, že z částic různého složení, které byly v laboratoři postupně testovány, jsou právě Pd nanočástice pro funkci markeru nejvhodnější – jsou poměrně stabilní v roztoku, ale i pod svazkem primárních elektronů, a ve skenovacím elektronovém mikroskopu je možné je odlišit od zlatých nanočástic pomocí zobrazení ve zpětně odražených elektronech. Dále při konjugaci Pd nanočástic se streptavidinem mohla využít již vyzkoušenou metodu popsanou kolegyní Vancovou, která je založena na úpravě povrchu nanočástice pomocí DHLA s následnou kovalentní vazbou proteinu. Tato metoda velmi dobře fungovala v případě kulových nanočástic, ale selhávala v případě Pd kostek. Proto Denisa musela vyzkoušet řadu modifikací výše uvedeného konjugačního postupu, až se vrátila k metodě přímé konjugace Pd nanokostek s protilátkou. Další, pro nás nové, výsledky, které by si zasloužily publikovat, získala při testování, jak se mění vlastnosti těchto konjugátů s časem.

Laboratorní práce s nanočásticemi není jednoduchá, roztoky Pd nanočástic jsou velmi citlivé na čistotu a vyžadují pečlivou laboratorní práci, kterou Denisa zvládla. Také jejich detekce především ve skenovacím elektronovém mikroskopu předpokládá určitou zkušenost, protože je třeba je zobrazovat při vysokém zvětšení a obraz nesmí být zatížen vadami, jako je např. astigmatismus, které by zkreslily měření jejich průměru. O to více mě mrzí, že Denisa v magisterské práci byla velmi stručná a řadu problémů, postřehů a

zkušeností zde nepopsala. Právě prezentace výsledků a úroveň stylistických schopností se ukázala být její největší slabinou.

I přes výše zmíněné nedostatky Denisa Martykánová splnila cíle uvedené v zadání magisterské práce a získala nové poznatky využitelné při vícenásobné imunolokalizaci ve skenovacím elektronovém mikroskopu.

V Českých Budějovicích, 29.5.2014



Ing. Jana Nebesářová, CSc