

## OPONENTSKÝ POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

Název práce: **Bioaktivní mikroprůtokový systém pro průkaz vybraných analytů v biologickém materiálu**

Autor práce: **Bc. Adam Folta**

Vedoucí práce: **Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.**

Oponent: **Mgr. Zuzana Svobodová (KBBV, FCHT, Univerzita Pardubice)**

Předložená diplomová práce studenta **Adama Foly** se zabývá velice aktuálním tématem mikrofluidních systémů.

Teoretická část zpracovává velmi podrobně způsoby výroby mikrofluidních systémů, materiály, ze kterých jsou vyráběny, dále se zabývá strukturou mikročipu, metodami pohybu tekutiny a obvyklými způsoby detekce a v neposlední řadě jejich aplikacemi. Zde bych pouze poznamenala, že ačkoliv práce přímo nepojednává o zkoušení a porovnávání výhod či nevýhod různých metodik pro výrobu čipů, je jí věnována značná část teoretické části na úkor využití mikročipů ve vědě a praxi. Dle mého názoru by postačoval stručný princip u každé z metod. Vzhledem k tomu, že se práce zabývá i použitím magnetických imunosorbentů pro specifickou izolaci proteinů/peptidů ze vzorku, bylo by patrně vhodné jí věnovat v teoretické části více místa než jen velmi krátký a stručný odstavec 2.7.2. Naopak izolaci DNA, se kterou nebylo v rámci experimentální části vůbec pracováno, byl věnován mnohem větší prostor.

Diplomová práce obsahuje 142 citací a odkazů na internetové zdroje zpracovaných podle citačních norem. Zde bych pouze podotkla, že zejména literatura týkající se aplikací mikrofluidních zařízení je málo aktuální, často starší než 5-10 let, což se mi vzhledem k intenzivnímu výzkumu v této oblasti a stále narůstajícímu množství nových publikací zdá neadekvátní.

Z experimentální části je patrné, že student během diplomové práce zvládl velmi široké spektrum metod zahrnujících imobilizaci enzymů a protilátek na magnetické i nemagnetické nosiče, jejich použití pro izolaci či štěpení proteinů/peptidů ve vsádkovém i mikročipovém uspořádání. Dále fyzikální metody týkající se optimalizace uspořádání magnetů a průtoku, aby došlo ke tvorbě magnetické zátky a také blokaci nespécifické sorpce v trubičkách a kanálcích. V neposlední řadě si osvojil základní bioanalytické metody jako je elektroforéza, BCA test, spektrální metody pro průkaz proteinů a stanovení aktivity enzymů. Tato část je zpracována velmi pečlivě a srozumitelně.

Výsledková a diskusní část je velmi rozsáhlá a odpovídá množství zvládnutých metod a je doplněna množstvím názorných obrázků (45), grafů a schémat.

V textu diplomové práce jsem se nesečkala s hrubými chybami a až na drobné nesrovnalosti v přechýlení či jednoho méně formálního vyjádření (str. 105 „...prostoru se *vlezly* dva magnety“ namísto *vešly*) jsem nic podstatného nezaznamenala. Zejména kapitoly Experimentální část a Výsledky a diskuze jsou stylisticky dobře zpracovány.

K diplomové práci mám ještě několik drobných poznámek a dotazů:

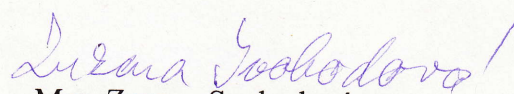
- 1) Při popisování jednotlivých typů přístrojů bych doporučila stejný zápis (název přístroje, název vyrábějící – ne dodávající – firmy a zemi původu), to nebylo dodrženo u popisu Hamiltonových pipet (Fisher Scientific je pouze dodavatel) a syringe pump

(např. s. 70 a 72). Dále jsem si všimla nepřesnosti v názvu u firmy „kdScientific“ místo „KD Scientific“.

- 2) Následně bych upozornila na nedostatek v použité terminologii slova „izomer“ v souvislosti s Abeta peptidy, který se vyskytuje ve všech částech diplomové práce. V daném případě se jedná o izoformy Abeta peptidu, nikoliv o izomery, neboť molekulovou váhu rozhodně nemají stejnou, jak je tomu u izomerů, a naopak strukturu mají po určitou aminokyselinu stejnou. Liší se počtem aminokyselin, např. Abeta 1-37 a Abeta 1-40 se liší v délce 3 aminokyseliny, ale prvních 37 aminokyselin mají stejných. Jedná se tedy o izoformy, ne o izomery Abeta peptidů.
- 3) V diplomové práci jsem nenašla specifikace protilátek použité u imunosorbentů pro izolaci Abeta peptidů a Ovalbuminu.
- 4) Na str. 74 se nachází vzorec (1), kdy podílem dvou hodnot absorbancí získáme koncentraci stanovované látky. Zde bych poprosila o vysvětlení.
- 5) Dále bych se zeptala, jaké další vylepšení čipu by autor považoval za vhodné vyzkoušet a proč.

Přestože se nepodařilo vytvořit zátku v mikrofluidním zařízení, získané zkušenosti lze zúročit v další diplomové práci. Student v rámci své diplomové práce splnil její zadání, výše uvedené připomínky jsou spíše doporučením a nedostatky jsou většinou formální a výrazně nesnižují kvalitu práce, a proto ji doporučuji k obhajobě a hodnotím **výborně – M.**

V Pardubicích 20.5.2010

  
Mgr. Zuzana Svobodová