



Univerzita  
Pardubice  
Fakulta  
chemicko-technologická

Posudek na diplomovou práci Bc. Martina Bohuslava

„Povrchová modifikace magnetických částic pro efektivní izolaci krevních buněk“

Autor práce: **Bc. Martin Bohuslav**, Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra biologických a biochemických věd, Studentská 573, 532 10, Pardubice.

Oponent: RNDr. Radim Havelek, Ph.D., Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra biologických a biochemických věd, Studentská 573, 532 10, Pardubice.

Předložená práce má celkem 99 stran textu včetně 3 grafů, 25 tabulek, 41 obrázků ve vlastním textu práce a 12 obrázků v příloze. Je členěna na 8 hlavních kapitol (úvod, teoretická část, experimentální část, cíle diplomové práce, výsledky a diskuze, závěr, seznam použité literatury, přílohy). Kromě těchto kapitol obsahuje rovněž v obsahu neoznačené kapitoly: seznam použitých zkratk, souhrn a klíčová slova v českém a anglickém jazyce. Seznam literatury obsahuje 82 literárních pramenů s dodržemím citační normy. Cílem práce je vývoj nového imunosorbentu s minimální nespecifickou sorpcí pro izolaci cirkulujících nádorových buněk (CTC) a jeho porovnání s komerčně dodávaným nosičem. Vlastní účinnost připraveného imunosorbentu byla ověřena pomocí biospecifického páru proteinu p53 a polyklonální nebo monoklonální protiálky anti-p53. Dalším dílčím krokem bylo porovnat afinitní vlastnosti připraveného imunosorbentu anti-EpCAM s komerčně dodávaným imunosorbentem v experimentech s použitím imortalizovaných linií nádorových buněk.

V teoretické části autor práce popisuje patofyziologii nádorových onemocnění ve vztahu k CTC. Autor také definuje charakteristiky CTC a význam diagnostiky CTC pro klinickou praxi. Věnuje pozornost metodám kvantifikace CTC pomocí morfologických a imunofenotypových kritérií.

V experimentální části práce charakterizuje uspořádání pokusů, materiál, použité metody pro ověření aktivity připravených imunoafinitních nosičů včetně popisu analýzy pomocí těchto metod.

K práci mám tyto připomínky:

U tabulek a některých grafů vyjadřujících naměřená data chybí směrodatné odchytky ačkoliv byly experimenty dle autora provedeny opakovaně. Práce zcela postrádá statistické hodnocení získaných dat s absencí vyjádření významnosti rozdílů mezi jednotlivými skupinami. Tento nedostatek pokládám za kritický vzhledem k faktu, že sporadicky uvedené směrodatné odchytky dosahují vysokých hodnot. V části výsledky a diskuze zcela chybí konfrontace závěrů diplomové práce s poznatky jiných autorů.

Závěrem konstatuji, že předložená práce i přes nedostatky splňuje svým rozsahem a úrovní zpracování minimální kritéria kladená na experimentální diplomovou práci. Student splnil cíle práce, které si stanovil. Autor práce si vybral aktuální a vědecky vysoce hodnotné téma, které společně s ovládnutím náročných technik imunochemie vyžadovalo vysoké pracovní úsilí studenta. V souvislosti lze jen politovat, že práce jako celek působí nedotaženým dojmem a že student v průběhu práce nevěnoval více času hodnocení získaných dat a jejich diskuzi se školitelem.

**Vzhledem k výše uvedenému doporučuji práci k obhajobě se známkou velmi dobře.**

K autorovi mám následující dotazy:

- 1) Pomocí jaké fluorescenční sondy byly buňky značeny v kapitole 5.8 pro analýzu na fluorescenčním mikroskopu (obrázky 40 a 41)?
- 2) Byla během práce orientačně potvrzena vazba samotného p53 pomocí různých imunoafinitních nosičů specificky (např. imunochemicky, MS), nebo jste se spoléhali na jeho identifikaci jen jako proteinu o velikosti 43,7 kDa pomocí SDS-PAGE?

V Pardubicích dne 28. května 2013

RNDr. Radim Havelek, Ph.D.

