



V Pardubicích 24. 5. 2019

## OPONENTSKÝ POSUDEK DIPLOMOVÉ PRÁCE

Název práce: **Aplikace mikrofluidního zařízení v kombinaci s magnetickými částicemi v bioanalýze**

Autor práce: **Bc. Alžběta Kavková**

Oponent: **RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.**

Diplomová práce studentky **Alžběty Kavkové** se zabývá tématem, které je v dnešní době v oblasti bioanalýzy v popředí zájmu, a to možností využití mikrofluidních zařízení, která mohou zjednodušit analýzu, snížit její náklady a množství použitého biologického materiálu. Mikrofluidních systémů je na trhu již celá řada, nicméně studentka se zaměřila na taková zařízení, která mohou být spojena s magnetickými částicemi. Ve své práci využila komerční mikročipy a systém pump pro kontrolu průtoku čipem, který byl na pracovišti nově zakoupen. V tomto směru je její práce velkým přínosem. Nicméně k práci mám jisté připomínky a komentáře, které níže uvádím.

Diplomová práce je obvyklým způsobem členěna na teoretickou a experimentální část, na kterou navazuje společná část výsledků a diskuze. Teoretická část má povahu rešerše, je zpracována s využitím 70 literárních zdrojů a je doplněna 10 obrázky. K jejímu zpracování mám některé výhrady. Pro její zpracování studentka využila velké množství zdrojů typu přehledových článků (review), které by v diplomové práci měly být upozaděny a studentka by měla prokázat schopnost kompilace z původních zdrojů. Rozsah teoretické části je také na minimální požadované hranici (20 stran), a to nepočítám nadbytečné odsazování kapitol na nové strany, které nepůsobí dobře. Práce obsahuje větší množství překlepů a studentka se jich nevyvarovala ani v nadpisech kapitol a obsahu. V textu by měl být vždy odkaz na obrázek (např. u obr. 1 toto chybí). Na str. 26 je uveden obrázek magnetických částic. Na trhu jich existuje velké množství, bylo by asi dobré uvést, proč studentka uvádí pouze tento typ.

V experimentální části jsou přehledně popsány jednotlivé metody, které studentka využila, konkrétní nastavení průtoků a programování systému pump pak na konci v práci v přílohách. V experimentální části u enzymů, např. TPCK trypsinu, by měla být uvedena jeho aktivita udaná výrobcem. Dále by se měla vyvarovat některých nepřesných formulací, jako „vsádková izolace ovalbuminu“ – jedná se o afinitní izolaci ve vsádkovém uspořádání. Dále uvádí, že „pro imobilizaci nanočástic byl postup mírně upraven“ (str. 43) – předpokládám, že mělo být, že pro imobilizaci trypsinu na nanočástice byl postup upraven.

Výsledková část je sepsána přehledně a odpovídajícím způsobem diskutována. Mírně nepřehledná je tabulka 5 (str. 55), kde mi chybí uvedení čísel ventilů, které by přidalo na přehlednosti.

Na str. 61 jsou výsledky stanovení aktivity imobilizovaného trypsinu, kde mi chybí uvedení substrátu, který byl pro její stanovení použit. Navíc, z pohledu enzymologie by správně měla být aktivita enzymu vyjádřena v IU/mg částic, a ne v  $\mu\text{g}/\text{mg}$ , to není jednotka aktivity. Mělo by být i dále v textu sjednoceno používání termínu „TPCK trypsin o aktivitě“, ne o koncentraci (str. 62). Opět se vyskytují další nepřesné formulace – např. str. 64 – na obrázku je záznam elektroforetického dělení – na obr. je výsledek, tj. gel po elektroforetické separaci a obarvení, dále str. 65 – obr. 23 – zavádění částic do čipu – na obrázku je fotografie zařízení. Nepřesné popisky jsou u většiny obrázků.

Na studentku bych měla několik otázek k zodpovězení:

1. Str. 17 (poslední věta) – studentka uvádí, že při výrobě čipů je použití polymerních materiálů levnější oproti křemíku a sklu, ale je nižší chemická odolnost. Ale dají se najít výjimky. – **Jaké výjimky? Můžete uvést příklad?**
2. Studentka uvádí na str. 43, že pro imobilizaci trypsinu využila „2. krokovou metodu se sulfo-NHS“ – **O jakou metodu se jedná?**
3. Str. 50 – je uvedeno, že bylo imobilizováno 100  $\mu\text{l}$  protilátek na 1 mg částic – **jaká byla koncentrace roztoku, tj. jaké množství v  $\mu\text{g}$  bylo vázáno?**
4. Str. 62, obr. 19 – **vzhledem k velkému množství proužků na gelu, jedná se o analýzu směšného vzorku? Nebo jen  $\alpha$ -kaseinu? jaká je molekulová hmotnost  $\alpha$ -kaseinu? Co je myšleno tvrzením „dostatečné naštěpení kaseinu bylo pozorováno až po pěti hodinách, kdy se však nacházelo ve vzorku velké množství fragmentů s vysokou molekulovou hmotností“? Podle proužku odpovídajícího kaseinu, je jeho molekulová hmotnost lehce nad 25 kDa, což nepovažuji za fragmenty s vysokou molekulovou hmotností.**

Závěrem bych ráda uvedla, že studentka splnila zadání diplomové práce, nicméně vzhledem k výše uvedeným připomínkám, z mého pohledu nižší kvalitě zejména teoretické části, práci po zodpovězení dotazů doporučuji k obhajobě a hodnotím ji známkou **C**.

RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.

