

Posudek diplomové práce Bc. Romany Bránové

Téma předložené diplomové práce bylo koncipováno na základě projektu, který je zaměřen na biofunkcionalizaci nanovláknenných materiálů, charakterizaci těchto materiálů a zhodnocení jejich vlastností pro využití v oboru léčby a hojení ran. V práci jsou přesně definovány cíle diplomové práce i způsoby jejich realizace. Pouze zařazení této kapitoly není standardní (kap. 2 místo kap. 4). Teoretická část byla vypracována přehledně, stylisticky správně. Studentka prokázala dobrý přehled o dané problematice, což dokazuje i 66 zmiňovaných prací, převážně recentních a původních prací publikovaných pouze v zahraničních časopisech.

Nemám žádné zásadní připomínky k formální stránce práce, považuji práci za velice pečlivě, pozorně a srozumitelně napsanou. Drobné chyby v teoretické části si dovoluji shrnout v následujícím přehledu:

- 1) Termín obvazy, obvazový materiál bych doporučila nahradit slovem kryty ran (např. anotace, na str. 34, kap. 3.3.2. apod).
- 2) Co přesně znamená zkratka rhEGF, která je uvedena v seznamu zkratk?
- 3) Místo termínu schopnost udržet vlhkost bych použila termín hydrofilní (str. 21).
- 4) Formulaci „Alginát má výbornou biokompatibilitu...“ bych nahradila větou „Alginát je biokompatibilní“ (str. 22).
- 5) Jak se správně označují hmotnostní procenta (str. 22)?
- 6) Na straně 23 je látka polyεkaprolakton psána anglicky, totéž na straně 41 isooctan, na str. 46 a 47 lactide-co-glycolid, lactid, glycol, hydrochloride na str. 59-65).
- 7) Diplomantka popisuje na str. 23 mechanické vlastnosti jako modul a elasticita, co znamená termín modul?
- 8) Na str. 23 diplomantka hovoří o studii, kde byly použity PCL vlákna ke kultivaci buněk, citace, odkaz na zdrojovou literaturu, však není uvedena.
- 9) Termín post-modifikace bych doporučila nahradit českým termínem (str. 25).
- 10) Vysvětlení termínu není toxická (biokompatibilní), není správné (str. 28, bod 5).
- 11) Termín reakční polymer není přesný (str. 40, dole).
- 12) Pro glutaraldehyd se používá zkratka GTA (str. 41).
- 13) Difuse nebo difúze (str. 44, 87).
- 14) Co je správně: molekulová nebo molekulární váha str. 45 nahoře.

Experimentální část obsahuje úvodní kapitolu věnovanou popisu přístrojů, které byly použity během experimentální práce. Poté následují protokoly všech metod, které si studentka

musela pro řešení dílčích úkolů osvojit. Chybí pouze metoda vážkové analýzy zmiňovaná v textové části.

Význam této práce je nesporný, studentka prokázala rozsáhlé znalosti nejen z oblasti imobilizace enzymů, stanovení enzymové aktivity, ale i práce s nanovlákněným materiálem, která, jak diplomantka sama popisuje v práci, nebyla vždy jednoduchá a reprodukovatelná.

Následují připomínky k experimentální a výsledkové části diplomové práce:

- 1) Název obrázku č. 12 (str. 71) nevystihuje přesně obsah (aktivita x množství). Název grafu uvedený přímo v obrázku je zavádějící (kalibrace trypsinu pro 1 ml). Podobně je i obr. č. 13, kde je název Kalibracekitu pro trypsin.....správně by mělo být Vyjádření závislosti absorbance na množství (proteinu) trypsinu, stanoveno metodou BCA, reakční objem 1 ml.
- 2) Slovo gramáž je slangový výraz.
- 3) Vysvětlení nižší účinnosti vazby trypsinu na straně 72 je nepřesné – nabobtnáním nelze omezit vazbu enzymu pouze na povrch vlákna, na suché se váže i dovnitř? Není jasně vyjádřeno.
- 4) Na str. 73 je v tabulkách chybně uvedena jednotka aktivity enzymu (μg). U grafu na str. 75 je osa y nepřesně nazvána aktivní trypsin (μg).
- 5) Termín jiná lahvička trypsinu bych doporučila nahradit termínem jiná sarže (str. 74).
- 6) Věta „Vzorek byl 5x ředen, aby se vešel do kalibrační křivky“ nepatří do odborného textu. Název obr. č. 17, 18 též (Fotky...).
- 7) Proč jste nevyzkoušeli zvýšit molaritu jodistanu sodného nad 0,1 M?
- 8) Formulace závěru u kapitoly 5.1.9 není přesná. Doporučuji: potvrdili jsme nebo ověřili jsme si, že aktivita vázaného enzymu v závislosti na teplotě se nemění a teplotní optimum je pro vázaný i volný enzym stejné (tj. teplota 37°C).
- 9) U kapitoly 5.1.10. bych doporučila zhodnotit poklesy v aktivitách v %.
- 10) U tab. č. 11 byl porušen princip samonosnosti – chybí údaj o pH. Proč nebyl testován vliv různých hodnot pH s klesajícím trendem od pH optim. pro trypsin? Jaké pH je na povrchu kůže a proč byla pro pokus zvolena tak extrémní hodnota pH 1,2?
- 11) Tab. č. 12 má popisovat vliv iontové síly, jaká molarita byla při tradičním uskladnění, tento údaj (molarita, vodivost) chybí.
- 12) Obr. č. 21, proč není zřetelný proužek v pozici 63 kDa v pozici 2, kde je dávkován výchozí roztok elastinu a v pozici 4 je zřetelný? Vysvětlení o nízké koncentraci elastinu ve vzorku je v takovém případě nepřesné. Byl elastin před štěpením rozvolněn? Proč jste nezvolili vyšší koncentraci elastinu?
- 13) Škoda, že není uveden náskres nebo fotografie použitých kroužků a nádobek, schéma uspořádání pokusu. Z textu toto není zřetelné.

- 14) Proč nebyla stanovena aktivita nanovláken v kroužku a volně najednou ve stejném čase a se stejnými roztoky? Vliv tzv. interassay chyby může významně znehodnotit tvrzení.
- 15) Ověřovali jste si, že samotné nanovláknko neinterferuje s BCA činidlem? Množství enzymu navázaného na 1mg vláken (84 μg trypsinu) je neadekvátní výsledné aktivitě enzymu vyjádřené v μg (to by byla inhibice enzymu po vazbě 90%!!! Platí pro všechny pokusy (tab. č. 9, 10, 13). Přitom na straně 73 se uvádí, že na 1 mg vláken bylo imobilizováno přibližně 50 μg trypsinu. Jaká je hodnota extinkčního koeficientu pro trypsin, jaký vztah byl použit pro kvantifikaci proteinu (str. 73).
- 16) Tvrzení na straně 87 dole: „Bylo to pravděpodobně způsobeno sníženou difúzí. Čím větší objem, tím je difúze pomalejší“, není správné. Rychlost molekul enzymu pohybujících se v roztoku je stejná (rychlost se mění na základě koncentračních rozdílů), ale vzdálenost, kterou musí jednotlivé molekuly uputovat za stejný čas inkubace v různých obehemech je mnohem vyšší, tedy účinnost vazby je logicky nižší.
- 17) Obr. č. 22 by měl mít název: Srovnání vlivu reakčních objemů vazebného roztoku na výslednou aktivitu enzymu vázaného na 1 mg nanovláken zachycených v kroužku....., tak jak je nepřesný a zavádějící.
- 18) Proč jste zkoušeli operační stabilitu pouze 6x, byl k tomu nějaký důvod? Zdá se, že nosiče jsou hodně stabilní.
- 19) Termín rozmočení doporučuji nahradit slovem hydratace, rehydratace (str. 90).
- 20) Kolikrát byl pokus 5.1.16.1 opakován, zvýšení aktivity při teplotě sušení 40°C je neočekávaný.

Celkově práci hodnotím velice kladně. Jako nejvýznamější připomínku v rámci celé diplomové práce považuji pouze bod č. 15 z výsledkové části. Prosím diplomantku o řádné vysvětlení v rámci diskuze.

Je zřejmé, že studentka prokázala znalosti v oboru chemické modifikace nanovláken, charakterizaci a popisu vlastností těchto nových materiálů. Práci vzhledem ke kvalitě předložené práce a splnění všech zadaných úkolů hodnotím známkou **výborně M**.

21. 5. 2010 Pardubice


Doc. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.