



v Pardubicích dne 28. 5. 2013

Posudek oponenta diplomové práce

Vyhotovila: Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.

Název diplomové práce: Imunosenzor pro stanovení onkogenního markeru ovariálního karcinomu

Autor práce: Bc. Veronika Štěpánková

Vedoucí práce: RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.

Konzultant práce: Mgr. Michaela Čadková

Téma diplomové práce zahrnuje popis a rozdělení tumormarkerů, možnosti použití biosenzorů pro jejich detekci a dále se podrobně zabývá tumormarkery CA125 (karcionální antigen 125) a HE4 (human epididymal protein 4) na celkem 25 stranách. Téma práce je velmi aktuální především z důvodu nových poznatků o souvislosti zvýšené hladiny HE4 při ovariálním karcinomu. Dosavadní vyšetřování tumormarkeru CA125 není pro ovariální karcinom vždy dostatečné. Metodika stanovení je postavená na imunoanalytických principech (typu EIA). Nověji jsou vyvíjeny metody imunosenzorické, na kterých je také založena experimentální část diplomové práce.

Teoretická část je zpracována z velkého počtu literárních odkazů (124), ve většině případů z odkazů na zahraniční literaturu. V experimentální části je uvedeno 12 metod na 19 stranách a výsledková část zabírá 19 stran z celkových 96 stran. Metodická část je psána v odborném jazyce a splňuje předpoklad znovuprovedení experimentů. Řazení kapitol s výsledky má logickou posloupnost. Výsledky v této práci ukazují na použití časově náročných technik, jako konjugace protilátky s enzymem, optimalizace ELISA metody apod. Jedním z prvotních kroků byl výběr protilátek jako detekčního systému pro HE4. V závěru práce jsou předchozí metody využity pro konstrukci imunosenzoru, který ale bude dále vyžadovat mnohé další úpravy, např. navrhované použití nanočástic s inkorporovaným thioninem a křenovou peroxidázou či úpravu koncentrace peroxidu vodíku jako substrátu. Jazyková a formální úroveň práce je až na několik překlepů velmi dobrá.

Dotazy a poznámky

1. Je velikost antigenu HE4 dostatečná k tomu, aby mohly být k detekci použity dvě specifické protilátky v systému *protilátka-antigen-protilátka*? Předpokládá se vazba na jednu antigenní determinantu či více?
2. Je výskyt ovariálního karcinomu ve světě rovnoměrný, nebo souvisí nějak s životním stylem, geografickou polohou?
3. Doporučuji používat výraz *detekovat* (s. 34, detegovat).

4. V jakém vztahu je citlivost vyvíjené metody v práci a detekční limit zvýšené hodnoty HE4?
5. Na s. 67 je uveden poměr antigenu HE4 k protilátce 4:1, nemá být správně uvedeno obráceně 1:4? Na str. 73 je poměr uveden správně.
6. U obrázků 17 a 18 (SDS-PAGE) není uvedeno denzitometrické hodnocení, bylo vyhotoveno a případně jaké byly číselné hodnoty? U polyklonálních protilátek bylo okem možné pozorovat mnohem nižší výtěžek antigenu HE4.
7. S. 71 podle výrobce kitu pro značení protilátky HRP není nutné izolovat konjugát od neznačené protilátky, sledovali jste při aplikaci konjugátu nějaké komplikace? Jaké by teoreticky mohly být?

Studentka splnila určené zadání práce, rozsah práce patří k standardním. Po zodpovězení dotazů ji doporučuji k obhajobě. Navrhuji ohodnocení známkou výborně.



Mgr. Marcela Slovákova, Ph.D.

oponent práce