

## Oponentský posudek diplomové práce

**Název práce:** Vývoj ELISA metody pro průkaz a kvantifikaci anti-CA I IgG

**Autorka práce:** Bc. Monika Špetlová

**Vedoucí práce:** prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph.D.

**Konzultant práce:** Mgr. Barbora Jankovičová, Ph.D.

Předložená diplomová práce se zabývá zavedením metody ELISA pro průkaz anti-CA I protilátek a jejich kvantifikací v sérech pacientů s mnohočetným myelomem. Tomu přirozeně předchází optimalizace metody na modelovém systému s anti-chymotrypsinovými protilátkami, kterým je věnována převážná část práce.

V **teoretickém úvodu** se studentka věnovala vysvětlení základů imunoanalytických metod. Stručně a jasně zmínila různé typy indikátorů používané pro tyto metody a dále se zabývala metodami pro zvýšení citlivosti ELISA metody. Teoretická část práce je psána přehledně, text se díky bezchybnému pravopisu a absenci překlepů čte dobře. Poněkud rušivě však působí střídavé zarovnání textu doleva a do bloku, stejně jako různá velikost písma (str. 16). To však bohužel není jediný formální nedostatek; seznam zkratk umístěný netradičně na konec práce je nekompletní (chybí například zkratky jako IS, IA metody, CAMPOS-str. 24?) a především není abecedně seřazený. Dále bych vytkla nejednotné psaní ismů/izmů (např. organismus/organizmus, peroxidasa/peroxidáza) a absenci odkazů na vložené obrázky (konkrétně obrázky č. 6, 22 a 30) a tabulky (tabulka 2 a 3). Dále se domnívám, že zkratka „ELISA“ je nesklonná (např. str. 21-22, popis obrázků 7,8,9)! Tyto formální nedostatky bohužel snižují kvalitu práce, stejně jako hovorové vyjadřování typu „Ten se jakoby odvaluje, ... „ (str. 42, při popisu metody „Rolling circle amplification“) nebo spojení „životnost zvířete“ (str. 14).

**Experimentální část** je psána stručně, jasně, přehledně.

Z části **Výsledky a diskuze** je patrné, že studentka provedla značné množství experimentů, které jsou však často nedostatečně zdůvodněné a jejich výsledky by mohly být lépe okomentované. Ve výsledcích studentka několikrát komentuje výsledek pouhou větou „Hodnoty absorbancí pěkně korelovaly s množstvím přidaných protilátek“. Grafům v závěru práce (Obrázky 60-71) chybí popis os. Rovněž postrádám diskuzi.

### **Studentku bych poprosila o zodpovězení následujících dotazů:**

- ELISA metodu jste optimalizovala s použitím dvou chromogenů: o-fenylendiaminu a tetramethylbenzidinu. Proč jste vybrala tyto dva, čím se liší a který z nich byste na základě vlastní zkušenosti doporučila?
- Na str. 66 uvádíte, že z výsledků testování avidity anti-chymotrypsinových protilátek v prasečím séru vyplývá, že se v séru vyskytují převážně středně-aviditní protilátky. Jaký aviditní index, a tudíž i jakou molaritu thiokyanátu, byste očekávala v případě, že by se v séru vyskytovaly nízko- nebo vysokoaviditní protilátky?
- Proč jste při optimalizaci ELISA metody pro anti-CA I protilátky používala vedle pozitivní a negativní kontroly i bovinní sérový albumin (BSA)? Jaké další proteiny lze

využít ke stejnému účelu jako BSA?

Rozsahově práci hodnotím jako dostačující a pozitivně hodnotím množství literatury, které k sepsání práce použila (118 zdrojů). Seznam literatury není sepsán zcela jednotně, nicméně citované zdroje by byly podle uvedených bibliografických údajů zcela jistě dohledatelné.

Z předložené diplomové práce číší úsilí vynaložené při samotných laboratorních experimentech i při sepsání práce. Vzhledem k uvedeným nedostatkům diplomovou práci **doporučuji** k obhajobě, hodnotím ji však známkou **velmi dobře**.

V Pardubicích 24. května 2016.



Mgr. Jana Srbová, Ph.D.