

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 zkratkov umístěný netradičně na konec práce je nekompletní (chybí například zkratky jako IS, IA metody, CAMPOS-str. 24?) a především není abecedně seřazený. Dále bych vytáhla 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:

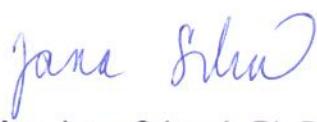
- ELISA metodu jste optimalizovala s použitím dvou chromogenů: o-fenylendiaminu a tetramethylbenzidinu. Proč jste vybrala tyto dva, čím se liší a který z nich byste na základě vlastní zkušenosti doporučila?
- Na str. 66 uvádíte, že z výsledků testování avidity anti-chymotrypsinových protilátek v prasečím séru vyplývá, že se v séru vyskytuje 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 stejnemu 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.