



v Pardubicích dne 25. 5. 2016

## Posudek oponenta diplomové práce

Vyhotovila: **Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.**  
Autor práce: **Bc. Klára Hošková**  
Název diplomové práce: Vývoj elektrochemického imunosenzoru pro kvantifikaci CA 125 biomarkeru ovariálního karcinomu  
RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.  
Vedoucí práce: Mgr. Veronika Dvořáková  
Konzultant práce:

Diplomová práce Bc. Kláry Hoškové se zabývá tématem přípravy elektrochemického imunosenzoru pro detekci biomarkeru CA 125. Metodika je součástí projektu pro vývoj elektrochemického imunosenzoru pro diagnostiku maligních onemocnění řešeného na KBBV a KAlCh Fakulty chemicko-technologické.

Text diplomové práce je standardně členěn do kapitol - úvod, teoretická část, experimentální část, výsledky a diskuse s uvedeným cílem práce a závěr. V teoretické části se autorka nejprve věnuje ovariálnímu karcinomu a příslušným biomarkerům. Dále navazuje biosenzory a charakteristikou a použitím kvantových teček. Text práce je doplněn schémata a obrázky, většinou v dobré kvalitě. V experimentální části jsou uvedeny přípravné kroky pro následnou přípravu imunomagnetického biosenzoru. Ve výsledkové části jsou popsány a diskutovány dosažené výsledky experimentů. Cílem diplomové práce byla (1) příprava imunomagnetického sorbentu pro záchyt antigenu CA 125 imobilizací anti-CA 125 protilátek na magnetické částice a (2) příprava konjugátu tvořeného anti-CA 125 protilátek značených QDs pro (3) detekci antigenu CA 125. Součástí byla řada přípravných a kontrolních kroků.

Studentka pracovala na zajímavém, i když obtížném, biotechnologickém tématu, ve kterém se bude na pracovišti dále pokračovat. Studentka zvládla řadu analytických a biochemických metod k sestavení funkčního biosenzoru, a přestože se nepodařilo zajistit jeho reprodukovatelnost, byly cíle této diplomové práce splněny. Diplomová práce patří k obsažnějším (140 stran). Z formálního a jazykového hlediska se studentka nevyvarovala stylistickým chybám a překlepům. 131 citací je čerpáno především ze zahraničních zdrojů z posledních 10 let. Forma citací je jednotná.

K předložené diplomové práci mám následující **dotazy a doporučení**:

- Pojmy „imunologické testy“ či „imunotest“ doporučuji nahradit pojmem imunochemický test (s. 38, 39 a 46). Imunologický test má význam pro vyšetření složek imunitního systému, ale ne ve využití protilátek jako detekčního činidla.

- V čem spočívá **výkonnost quantum dots (QD)** (s. 39)? Doporučuji zvolit vhodnější překlad pro „performance of quantum dots (QD)“.
- Uvádění anglických významů zkratk v textu považuji za zbytečné a snižující přehlednost textu. Dostatečné je uvedení v seznamu zkratk (s. 120).
- Pro rozvolnění struktury protilátky a konjugaci s QDs je na s. 48 uveden dithiothreitol. Pro úplnost může být text doplněn využitím merkaptoethylamin-HCl.
- Merkaptoethylamin-HCl je používán v experimentální práci pro rozvolnění struktury CA 125 (s. 98). **Bylo důvodem pro rozvolnění struktury CA 125 zvýšení vazby anti-CA 125 protilátek? Jak může být zvýšení afinity vysvětleno?** Případná inspirace v literatuře není v práci uvedena.
- Autorka se nevyvarovala některým nevhodným formulacím, jako např. „v práci jsem se zaměřila“ (s. 81) – práce je zaměřena, „protilátky se značí“ (s. 88 nahoře), „my jsme zkoušeli blokovat“ (s. 100 uprostřed). Formulace „protilátky se váží“ má znít „protilátky se vážou“ jelikož je odvozena od slovesa „vázat“ (s. 84).
- V diskusi jsou některé výsledky pouze komentovány bez podložení obrázkem (s. 88, kyselá eluce; s. 99, dot blot). V textu by se v takovém případě měla objevit formulace, že výsledky nejsou uvedeny.
- U některých obrázků chybí samonosnost a je obtížné pochopit výsledek. **Obr. č. 13A a 13B** (s. 84) neobsahuje potřebné vysvětlení, to je pouze v textu. U **Obr. č. 18** (s. 93) doporučuji pro lepší orientaci označit jednotlivé výsledky jako A, B a C. Chybný odkaz na **obr. č. 19** v textu (s. 94)
- Na **Obr. č. 20** (s. 96) je zobrazen princip konjugace protilátek fixovaných v imunokomplexu na antigenem modifikovaných magnetických částicích s QDs. **Jak je zamezeno konjugaci QDs na CA 125? Je konjugace protilátek s QDs kvantitativní nebo pouze kvalitativní a případný úbytek QDs nesnižuje kvalitu konjugace na protilátky?**
- Na s. 103 dole odkazuje autorka na předchozí práce (optimalizace elučních činidel). Autorka má zřejmě na mysli předchozí diplomové práce; ty by pak měly být uvedeny v seznamu použité literatury.

Závěrem konstatuji, že práce splňuje zadání, obsahuje všechny náležitosti a po stránce obsahové i formální má velmi dobrou úroveň. Po zodpovězení dotazů ji **doporučuji** k obhajobě a hodnotím známkou **velmi dobře**.



Mgr. Marcela Slovákova, Ph.D.

oponent práce