

## Posudek oponenta diplomové práce

**Vyhotovila:** Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.

**Autor práce:** Bc. Veronika Teclová

**Název práce:** Příprava a charakterizace reagensů pro imunochromatografický test

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

Diplomová práce Bc. Veroniky Teclové se zabývá principy imunochromatografických (ICh) testů využívaných k detekci analytů v různých biologických a potravinářských materiálech. Cílem práce byla příprava reagensů pro ICh test k průkazu protilátek proti *Salmonella* Enteritidis v lidském séru. V dílčích úkolech připravila biotinylovaný bakteriální lyzát a optimalizovala protokol k přípravě sekundárních protilátek anti-human IgG značených zlatými nanočásticemi. V závěru ověřila reaktivitu uvedených složek pomocí metody dot blotu. Cíle práce byly splněny.

Text diplomové práce je standardně členěn do kapitol. V rešeršní části studentka zpracovala základní uspořádání imunoanalytických testů a do detailů komponenty testovacího proužku. Zabývala se materiály pro vyšetření a jeho zpracováním, vyhodnocením testů, uvedla příklady běžně používaných testů a zhodnotila přínosy testů. V experimentální části jsou uvedeny uspořádání a náležitosti komerčních ICh testů, a jednotlivé použité metody. Ve výsledkové části jsou popsány dosažené výsledky. Text je psán odborným a přesto velmi čtivým způsobem. Práci doprovázejí převzaté a také vytvořené obrázky a schémata. U některých schémat je nižší kvalita (č. 12, 15). Jisté nedostatky lze nalézt pouze v oblasti formální úpravy textu (nedostatečné odkazování na obrázky od č. 14 do č. 23, chyby v používání a nepoužívání čárek ve větách např. na str. 15, 18, 26, 28). Přehled použité literatury svědčí o velmi dobré teoretické přípravě. Autorka pro zpracování diplomové práce použila celkem 116 literárních zdrojů, výhradně zahraničních.

K předložené diplomové práci mám následující připomínky a dotazy:

- Doporučuji nepoužívat zastaralý pojem uhlohydráty (str. 21).
- V teoretické práci uvádíte výhodné vlastnosti použití aptamerů v ICh testech (s. 24), přesto jejich využití ve srovnání s protilátkami zaostává. **Jak si toto vysvětlujete?**
- Velmi často v textu (od str. 36) používáte pojem „stanovení“ (analytů), přestože se ve většině případů jedná o kvalitativní detekci. Doporučuji v daných případech použít „detekci“ nebo „průkaz“.

- V metodické části na str. 66 bylo pro izolaci IgG použito odsolené lidské sérum. Nikde v práci neuvádíte jakou technikou ani objemy původního séra před odsolením, **prosím o doplnění.**
- Na obr. 28 (str. 73) uvádíte pozici albuminu, doporučila bych doplnit také pozici molekul IgG. **Jak si vysvětlujete molekulovou hmotnost IgG na gelu nad 250 kDa?**
- Metoda přípravy konjugátu IgG s nemodifikovanými zlatými nanočásticemi na str. 74 neobsahuje žádný odkaz na literaturu. V souvislosti s tím není více určena podoba rozvolnění molekuly IgG pomocí T-CEP. **Vysvětlete prosím tuto vazbu také v návaznosti na zachování schopnosti vazby rozvolněné protilátky na antigen.**
- K průkazu úspěšné konjugace IgG s nanočásticemi jste použila metodu SDS-PAGE. Z komentářů k obr. 30, 31 na str. 77 vyplývá, že proužky v oblasti IgG odpovídají konjugovanému IgG s nanočásticemi. **Je možné toto jinak ověřit? Je možné konjugaci v této fázi potvrdit např. použitím doporučené elektrochemické metody?**

Diplomová práce patří k standardně obsažným (83 stran po odečtení úvodních stran a seznamu literatury), členění kapitol je vyvážené. Formální a jazyková úroveň práce je na velmi dobré úrovni. Studentka pracovala na velmi zajímavém tématu, ve kterém se bude na pracovišti zřejmě dále pokračovat.

Závěrem konstatuji, že práce splňuje zadání, obsahuje všechny náležitosti a i přes výše uvedené připomínky má po stránce obsahové i formální velmi dobrou úroveň.

Po zodpovězení dotazů a vyjádření se k připomíncekám ji doporučuji k obhajobě a hodnotím známkou

A.

Mgr. Marcela Slovákova, Ph.D.