

**Bc. Ondřej Smrček**

### **Výběr a ověření reaktivity specifických protilátek a aptamerů pro vývoj HE4 senzoru**

Tato diplomová práce rozvíjí jeden ze současných trendů týkající se vývoje nových typů senzorů. Úkolem diplomanta bylo provést rešerši na téma metod pro ověření reaktivity a afinity párů protilátka–antigen, aptamer–antigen, a dále pak uvést příklady senzorů pro detekci HE4 proteinu. V experimentální části pak měl za úkol provést výběr dostupných specifických anti–HE4 protilátek a aptamerů a následně ověřit jejich reaktivitu pomocí blotovacích technik a metody MP–SPR.

Předložená diplomová práce má obvyklou strukturu: úvod, teoretickou část, experimentální část, výsledky s diskusí a závěr. Teoretická část nastiňuje problematiku proteinu HE4, který je důležitým markerem přítomnosti ovariálního karcinomu. Další kapitoly této části jsou pak věnovány metodám pro stanovení reaktivity a afinity protilátek a aptamerů. Na jejím konci jsou uvedeny příklady biosenzorů pro detekci HE4 proteinu.

Praktická část práce spočívala v ověření čistoty vybraných protilátek metodou SDS-PAGE, a dále pak ověření reaktivity protilátek a aptamerů jednak metodou DOT BLOT, ale také metodou multiparametrické povrchové plasmonové rezonance (MP–SPR). Druhé jmenované metody se týká převážná část provedených experimentů, které byly prováděny s využitím jak modifikovaného, tak nemodifikovaného zlatého čipu, a byla ověřována reaktivita vybraných protilátek a aptamerů. Závěr obsahuje shrnutí dosažených výsledků.

Práce má 33 stran teoretické části, 15 stran experimentální části a 17 stran s výsledky a diskusí, seznam literatury obsahuje nadprůměrných 179 odkazů.

#### **Připomínky a dotazy:**

1. V seznamu zkratk na str. 13 je chybně uvedena zkratka pro „ITO“. Součástí tohoto materiálu není oxid titaničitý. Dále, pro zkratku „SAM“ by bylo vhodnější použít termín *Samouspořádaná vrstva* místo „samoskladná“.
2. Na str. 24 dole, je chybně uvedena zkratka pro disociační konstantu.
3. Na str. 30 v posledním odstavci je věta: *Jsou nepoužitelné pro organické roztoky*. Jednak tato věta působí neobratně, ale také by mohl diplomant vysvětlit termín *organické roztoky* v uvedeném kontextu.
4. Na str. 32, část věty: „...dot blot vykazuje vyšší šum pozadí...“ Co je tím myšleno?
5. Na několika místech v teoretické části práce jsou uváděny citace na samostatném řádku, např. na str. 39 nahoře.
6. Na str. 44 dole, je neobratný popis v podobě věty: „*Základem imunosenzoru byla jednotěnná uhlíková nanotrubička,....*“. Stejně neobratně působí i věta v odst. 2 na str. 59: „*Po posledním kole.....byla křivka nechána ustálit.*“
7. Na str. 54, v nadpisu kapitoly 2.3.3 by mělo zaznít, že se jedná o aparaturu pro metodu dot blot.
8. Na str. 69, obr. 20. Proč je v ukázce kompletního sensogramu dávkování vzorku v čase 11100 s?
9. Obr. 23 a k němu text i na straně 72. Z uvedeného obrázku není jasné, proč bylo pro následující analýzy zvoleno rozmezí 1,5–2 µg/mL?

10. Na str. 72 obr. 24. Jakým způsobem byl záznam vyhodnocen, že uvedený rozdíl úhlu činil  $0,64 \Delta\text{mdeg}$ ? Zároveň absence značek na osách ztěžuje orientaci v prezentovaných grafech.
11. Na str. 76, obr. 27B. Proč má výřez (B) vazebné křivky řádově jiné hodnoty na ose Y než je uvedeno na obr. 27A?

*Námět k diskusi:* Jakým způsobem lze z prezentovaných sensogramů získat hodnoty asociačních a disociačních konstant?

Práce obsahuje řadu překlepů, více se však projevuje menší stylistická obratnost diplomanta. Typograficky je práce na poměrně dobré úrovni.

Diplomová práce má logickou stavbu, je napsána přehledně a srozumitelně. Výše uvedené nedostatky nesnižují její úroveň.

Práci doporučuji k obhajobě a hodnotím známkou:

**- B -**

V Pardubicích 26.5.2025

Ing. Tomáš Mikysek, Ph.D.