



**Posudek oponenta diplomové práce**

v Pardubicích dne 29. 5. 2012

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

Název diplomové práce: **Příprava imunosorbentu pro izolaci klinicky významných biomarkerů**

Autor práce: **Bc. Klára Jansová**

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

Konzultant práce: **Mgr. Barbora Jankovičová**

Téma diplomové práce zahrnovalo techniky afinitní separace a izolace biologických látek. Je zaměřena na molekulu imunoglobulinu G a jeho fragmenty. Autorka v teoretické části práce zpracovává metodiku volby a přípravy nosičů pro afinitní izolace ligandů. Detailně se zabývá způsoby orientovaných typů vazeb protilátky nebo jejích částí. Téma práce je velmi aktuální především z důvodů rozvoje afinitních technik izolací látek. V experimentální části je uvedeno 8 metod a výsledková část zabírá 21 stran z celkových 75 stran.

Jazyková a formální úroveň práce je přes občasné překlepy a nejednotný vzhled (s. 13 pojem *pentamer* namísto *pentamer*, s. 19 *chanin* namísto *chain*, *nezarovnání do bloku* s. 31, *procentuální údaj* na s. 69 bez mezery mezi číslem a procentem) na dobré úrovni. Teoretická část je zpracována z velkého počtu literárních odkazů, ty kromě odkazů na zahraniční literaturu obsahují celou řadu monografií. Číslování odkazů v textu není podle výskytu, ale ani podle jiného logického systému. Začíná čísly 11, 12 a pokračuje čísly 1 a 6. Tyto prohřešky snižují zbytečně kvalitu celé práce.

**Poznámky**

- na s. 16 autorka uvádí, že se Fc receptor pro molekulu imunoglobulinu G nachází na povrchu mastocytů a makrofágů. Na povrchu mastocytů se ale nachází Fc receptor pro imunoglobulin E. Chybí uvedení dalších buněk, které nesou FcR pro IgG, jako např. NK buňky, monocyty.
- Nelze používat slangový výraz *blank* (s. 63).
- Podle mého mínění chybí v metodické části popis denzitometrického vyhodnocení gelů.
- Obr. 29 a 30 nemají v textu odkazy, navíc nejsou zcela samonosné, tj. vysvětlivky k pozicím jsou v textu, ale bez odkazu na konkrétní obrázek. Pro čtenáře matoucí.

**Dotazy**

1. U metodik v kapitolách 4.5.7 a 4.5.8 nejsou uvedeny citace. To se týká i výsledkových částí. Jsou to stěžejní metody, pro které může být práce velmi přínosná. Znamená to, že autorka vyvinula obě metody? Přitom až na s. 57, téměř v závěru práce, je uveden princip rozvolnění imunoglobulinu G na dva fragmenty H+L (odkaz č. 96), a na s. 64

odkaz na metodiku vazby na SH nosiče (odkaz č. 63). Podle kterého odkazu studentka pracovala? Obdobně v práci není odkaz na metodiku vazby fragmentu IgG na bromoacetylový nosič.

2. Obr. 22 – jak si autorka vysvětluje přítomnost fragmentů IgG v oblastech 50, 60 a cca 100 kDa v původních vzorcích a v promývacích frakcích? Existuje nějaké riziko přítomnosti těchto fragmentů při kovalentní vazbě na nosiče? Byly tyto fragmenty přítomny také u dalších typů izolací?
3. Nikde v práci není uvedena afinita (síla vazby) prasečího IgG k proteinu A, která byla zásadní pro purifikaci imunoglobulinu ze vzorků sér. Znáte ji? Liší se od afinity lidského IgG k proteinu A, která je pro purifikační účely plně dostačující?
4. S tím souvisí dotaz na používané imunoglobuliny. Na s. 38 (kapitola 4.4.) je uvedeno, že imunoglobuliny používané v práci byly lidské, ale v jednotlivých metodikách jsou uváděny prasečí (např. s. 38 a 40). Jak to můžete vysvětlit?
5. Na s. 57 uvádíte: „na účinnost rozvolnění může mít vliv i druh IgG... „ opět chybí odkaz na literaturu. Proč tak soudíte?
6. Co vyjadřují čísla v tabulce 7 na s. 60 umístěné nad procentuálními hodnotami?
7. S ohledem na výsledky vazeb fragmentů IgG bez SMCC na SH nosiče, neuvažovala jste o správném nebo dostatečném provedení postupu vazby SMCC na IgG?

Práce nepatří k velmi obsažným, nicméně studentka splnila určené zadání práce i cíle. V práci je zejména ke konci práce cítit značný spěch, který společně s nejasnostmi a dotazy uvedenými v tomto posudku, snižuje celkový dojem z práce. Tato diplomová práce je přesto přínosem. Po zodpovězení dotazů a vyjádření se k poznámkám ji doporučuji k obhajobě. Navrhuji ohodnocení známkou velmi dobře-m.



Mgr. Marcela Slovákova, Ph.D.  
oponent práce