

Posudek oponenta diplomové práce

Vyhotovila: Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.

Autor práce: Bc. Michaela Gallová

Název práce: Zavedení metody pro izolaci exozómů z lidské krve

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

Diplomová práce Bc. Michaely Gallové se zabývá rolí exozómů u savců a metodami jejich studia a izolace. Cílem práce bylo popsat souvislosti jejich výskytu u jedinců s nádorovými změnami. Experimentálním cílem pak byly imunomagnetická separace, izolace a detekce exozómů z lidského séra zdravého dárce. V dílčích krocích studentka pracovala s komerčními kity pro izolaci exozómů, zavedla pracovní postup s přípravou afinitních nosičů pro detekci exozómů s povrchovými znaky CD64 a CD81. Pro tyto účely využila řadu detekčních metod, které patří mezi metody imunochemické, elektroforetické a imunoblotovací. Celý postup nejdříve vyzkoušela s modelovým antigenem karbonickou anhydrázou. Získané výsledky uvedla do závěru práce, zhodnotila a v rámci možností srovnala. Cíle práce tak byly splněny.

Diplomová práce patří ke standardně obsažným (82 stran textu). Text diplomové práce je standardně členěn do kapitol a jeho části – teorie, metody, výsledky, jsou vyvážené. Přehled použité literatury svědčí o výborné teoretické přípravě studentky. Experimentální a výsledková část popisuje všechny použité metody a dosažené výsledky s komentáři. Nicméně autorka neuvádí použité protilátky pro imunoprecipitace s komerčními kity, s. 78. Text je psán odborným a čtivým způsobem, a je doprovázený upravenými převzatými obrázky. V textu práce a obrázcích je několik drobných formálních nedostatků, jako např. používání zkratk neuvedených v seznamu - EV (anotace s. 7), anti-CAI (s. 60), DMP (s. 70), nadpisy kapitol na posledním řádku strany a chyby formátu (s. 32, 64), obrázek č. 1 (s. 22) nemá kompletní české popisky. Pravopisné a stylistické chyby nesnižují výrazně kvalitu vědecké práce. Jako vážnější nedostatek hodnotím posunuté číslování obrázků v celé práci oproti textu – viz např. tabulka 2, s. 70, čísla neodpovídají obrázkům v textu.

K doplnění předložené diplomové práce mám tyto připomínky a dotazy:

- Výraz „vyizolovaný“ je počestělá forma anglického překladu slova.
- Nevhodné používání formy - „se nám objevil proužek“ (s. 76), „se promyla“, „se aplikoval“, apod.
- **Je správně uvedeno - s. 63, 64 a 78 v metodické části otáčky 12,3 RPM, 6,0 RPM?** Pro srovnání s otáčkami uvedenými ve schématu na obr. 5, s. 40.
- **Jak byste popsala typ orientované vazby protilátek na protein A a G ze s. 70?**

- Protein na obrázcích s. 77 je uveden jako BSA – byl ověřován, zda se jedná o hovězí sérový albumin?
- Může autorka vysvětlit přesněji mechanismus pro použití 2M močoviny ke snížení množství abundančních proteinů v lidském séru?
- V práci autorka uvádí přítomnost znaků CD63 a 81 na exozomech. S ohledem na neprokázané detekce exozómů v práci ze séra zdravého dárce, může diskutovat, zda je to podle literatury nějak omezeno nebo změněno u zdravých osob a osob s nádory (míra jejich exprese)?
- Jak byste zhodnotila práci s magnetickým nosičem pro imunoprecipitaci, uvedla její výhody a nevýhody, a srovnala s použitím komerčních kitů?

Závěrem konstatuji, že studentka pracovala na velmi zajímavém tématu výzkumu nádorového onemocnění, kterému se na pracovišti věnují. Práce splňuje zadání, obsahuje všechny náležitosti a i přes výše uvedené připomínky má po stránce obsahové i formální velmi dobrou úroveň. Po zodpovězení dotazů ji doporučuji k obhajobě a hodnotím stupněm

B.

Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.