

Bc. Gabriela Bilíková

Optimalizace elektrochemické detekce hybridizace DNA na uhlíkových elektrodách

V teoretické části diplomové práce jsou shrnuty základní informace o DNA a jsou vysvětleny některé operace, které je nutno při analýze DNA provádět. Další část je věnována elektrochemické detekci hybridizace DNA, kdy jsou popsány především různé elektrodové materiály a enzymy, použité ke značení hybridizačních sond. Závěrem jsou uvedeny některé metody elektrochemické detekce hybridizace DNA.

Experimentální část je věnována důkladné optimalizaci experimentálních parametrů jednopovrchové metody detekce hybridizace syntetických oligonukleotidů a sond, komplementárních k části genu kódujícího tvorbu aflatoxinu B1 v plísních *Aspergillus*. Závěrem byly zjištěné optimální podmínky použity k detekci reálného vzorku plísně.

Autorka v textu práce neopravila větší množství překlepů, odstavce tvoří velmi často jen jediná věta a text je roztržěn velkým množstvím kapitol. Literární rešerše na téma elektrochemické detekce hybridizace DNA je nesystematická; část zdrojů je uvedena v kap. 2.3, další pak v následujících kapitolách, které se věnují materiálům elektrod, ale pouze ve formě odkazu na původní literaturu bez dalších podrobností. Přehlednější (a poučnější) by bylo zpracování formou tabulky, ve které by byly vypsány alespoň analyty a způsoby elektrochemické detekce hybridizace. V textu není odkazováno na obrázky, jejich číslování je prohozené, chybí vysvětlení schéma na obr. 6.

Další připomínky a dotazy:

Str. 21, 3. odst. – detekce hybridizace má 4 kroky, ne samotný proces hybridizace.

Str. 22, 2. odst. – jak guanidin·HCl urychluje proces hybridizace?

Str. 24, 3. odst. – nevhodné překlady z angličtiny: *snímač* (lépe senzor), *jednoduchý vzhled* (senzoru – jednoduchá konstrukce).

Str. 24, kap. 2.3 – část o elektrochemické detekci hybridizace DNA postrádá přehled postupů, které se pro detekci využívají (oxidace bazí DNA, interkalátory DNA, redoxní indikátory, značení redoxními látkami nebo enzymy, atd.) Přitom je to prakticky stěžejní téma diplomové práce!

Str. 25, kap. 2.3.1 – název kapitoly Využití biosenzorů pro elektrochemickou detekci je zmatečný; elektrochemická detekce se využívá v biosenzorech, ne naopak.

Str. 26, kap. 2.3.2 – chybí stručná příprava uhlíkových pastových a tištěných elektrod.

Str. 29, kap. 2.3.4.2 – text kapitoly s názvem Mikroelektrody popisuje běžný tříelektrodový senzor s makroelektrodou o průměru 1 mm. Jaké rozměry mají mikroelektrody? Název Elektroda 3v1 se hodí spíše pro označení šamponu.

Str. 30, kap. 2.3.5 – místo *elektrochemická adsorpce* radši psát adsorpce za vloženého potenciálu.

Str. 31, 3. odst. – text je stejný jako ve 4. odst. na str. 29.

Str. 31, kap. 2.3.6 – není vysvětlena role enzymu při elektrochemické detekci DNA. Ve kterém kroku detekce se enzym použije?

Str. 38, kap. 3.1 – analyzátor PalmSens vyrábí firma Palm Instruments, Ivium Technologies vyrábí pouze rozhraní mezi analyzátozem a PC a obslužný software. Co znamená *dvojnásobná síť* u 1-naftylfosfátu (str. 39)?

Str. 42, kap. 3.5 – malé množství uhlíkového inkoustu se nanese na šablonu (síto) a poté se těrkou natiskne na podložku.

Str. 43, kap. 3.8 – v seznamu literatury chybí uvedený odkaz Šnévajsová et al, 2010.

Str. 49, posl. odst. a dále – dochází ke zvýšení nebo snížení signálu (proudu píku), ne sondy samotné.

V experimentální části je nutno ocenit systematičnost při určení jednotlivých parametrů, které ovlivňují proces hybridizace, s cílem maximalizovat poměr detekčního signálu komplementární a nekomplementární sondy. Experimenty na sebe logicky navazují a postup prací směřuje ke splnění zadání. Zpracovávané téma je aktuální s příslibem praktického využití jednoduchých elektrochemických senzorů k rychlé detekci plísni *Aspergillus*.

Diplomovou práci **doporučuji** k obhajobě a pro výše uvedené připomínky ji hodnotím známkou

v e l m i d o b ř e



V Pardubicích 23. 5. 2010

Ing. Radovan Metelka, Ph.D.