

**Bc. Michaela Čadková**

**Konstrukce elektrochemického imunomagnetického biosenzoru pro detekci ovalbuminu**

Předložená diplomová práce se věnuje konstrukci a testování elektrochemického imunosenzoru pro detekci proteinu ovalbumin, což je v současnosti vysoce aktuální problematika vztahující se ke včasné detekci biologicky významných látek. Diplomantka v teoretické části popisuje vlastnosti ovalbuminu, jeho úlohu při vzniku alergií a možnosti izolace a stanovení. Dále velmi podrobně, přehledně a s uvedením charakteristických příkladů rozebírá jednotlivé typy biosenzorů. Poslední kapitola je věnována imunosenzorům, které využívají magnetické částice, což je hlavní téma diplomové práce.

Experimentální část je věnována charakterizaci elektrochemického imunosenzoru pro ovalbumin, využívajícího sendvičové uspořádání anti-ovalbuminové protilátky, navázané na magnetickou částici, antigenu a další protilátky, konjugované s enzymem křenuvátka peroxidáza. Podle množství vzniklého imunokomplexu byl pozorován úměrný pokles proudové odezvy oxidace peroxidu vodíku na platinové tištěné elektrodě v důsledku jeho přeměny enzymem v konjugátu. Diplomantka provedla velké množství experimentů k výběru vhodné magnetické částice pro imobilizaci protilátky, příslušných množství jednotlivých protilátek, konjugátu a substrátu. Závěrem byla provedena kalibrace připraveného imunosenzoru pro velmi nízké koncentrace ovalbuminu.

Diplomová práce je sepsána jasně, pouze s malým množstvím překlepů v úvodní části, která je svou délkou a obsahem spíše na úrovni teorie v dizertační práci. Zřejmě právě kvůli většímu rozsahu byly ale přehlédnuty níže uvedené nepřesnosti, z nichž některé by bylo vhodné pro úplnost blíže vysvětlit:

- str. 20, 2. odst. – v textu je uvedeno, že ovalbumin byl stanovován s využitím molekulárně vtištěných polymerů. Ty se ale využívají především k selektivnímu záchytu látky. Jaká analytická technika byla použita pro vlastní stanovení?
- str. 20, posl. odst. – ITO je oxid india dopovaný cínem, ne jen samotný oxid india; vlnovod potažený ITO místo *ITO-potažený vlnovod*.
- str. 23, 1. odst. – u jedné z uvedených nevýhod biosenzoru chybí slovo nízká – operační stabilita biosenzoru/převodníku je naopak výhodou.
- str. 24, posl. odst. – není jasné, mezi kterými látkami se využívá vazba pro imobilizaci biomateriálu u konkavalinu A a dextransu – mezi sebou anebo s biotinem?
- str. 26, 1. odst. – kapitola popisuje možnosti zachycení biomolekul do kompozitních směsí tvořících elektrodu. Jako použité materiály jsou mj. uvedené koloidní zlato a oxid vanadičný, přitom ty sami o sobě kompozitním materiálem nejsou. Jakým způsobem se využívají?
- str. 26, 2. odst. – místo výrazu *amperostaticky* (za konstantního proudu) je běžnější *galvanostaticky*.
- str. 29, 2. odst. – jak vypadá *molekulárně vtištěná elektroda*? Není to spíš jen elektroda obsahující molekulárně vtištěné polymery?
- str. 41, 1. odst. – pevná fáze místo *solidní fáze*.
- str. 43, posl. odst. – glukózaoxidáza byla imobilizována na částice, ne „*Částice byly imobilizovány glukózaoxidázou...*“
- str. 45, 2. odst. – diferenční pulzní voltametrie, ne *diferenciální pulzní voltametrie*.

Jednotlivé experimenty na sebe logicky navazují a směřují ke zdárnému dokončení podle úkolů zadání práce. Z praktické části by mne zajímalo, jak ovlivňuje imobilizaci přítomnost heterobifunkčního činidla? Dále by bylo vhodné uvést v diskuzi nebo závěru

srovnání navrženého elektrochemického imunosenzoru s klasickou ELISA se spektrofotometrickou detekcí. Poslední dotaz je spíše k zamyšlení, popř. k plánování dalších experimentů. Při měření úbytku  $H_2O_2$  by měly pro imunostanovení pozadí na čistých částicích vycházet největší proudy oxidace peroxidu, které se v čase prakticky nemění (na částicích není navázaný konjugát s enzymem, který by jej přeměňoval). Na grafech kalibrací jsou však pro magnetické částice se sulfonovou skupinou všechny proudy daleko menší než v přítomnosti imunokomplexu, jako by přírůstek peroxidu okamžitě s něčím reagoval a byl hned spotřebován. Je pro to nějaké vysvětlení?

Závěrem mohu konstatovat, že diplomantka Bc. Michaela Čadková splnila všechny úkoly zadání diplomové práce a výše uvedené formální připomínky neměly vliv na hodnocení kvality předložené práce. Diplomovou práci doporučuji k obhajobě a hodnotím ji známkou

**v ý b o r n ě .**

V Pardubicích 27. 5. 2011



Ing. Radovan Metelka, Ph.D.