

**Fakulta vojenského zdravotnictví Univerzity obrany  
Ústav molekulární patologie**

**Třebešská 1575, 500 01 Hradec Králové  
Tel.: 973 253 223, Fax: 495 513 018**

---

## **Oponentský posudek diplomové práce**

**Téma diplomové práce:** Vývoj bioaktivních nosičů pro pokročilou diagnostiku

Alzheimerovy choroby

**Jméno studentky:** Bc. Marie Vajrychová

**Institute:** Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra biologických a biochemických věd

**Jméno oponenta:** doc. Ing. Lenka Hernychová, Ph.D.

Cíle předložené diplomové práce byly zaměřeny na: (1) ověření účinnosti imobilizace vybraných protilátek a kináz na magnetické nosiče, (2) ověření účinnosti jejich vazeb a (3) fosforylace Tau proteinu.

Úvod a teoretická část diplomové práce jsou věnovány neurodegenerativním chorobám se zaměřením na charakteristiku a diagnostiku Alzheimerovy choroby. Studentka velmi obratně popisuje dosud známé znalosti o možných biomarkerech (A $\beta$  peptidy, Tau protein) tohoto onemocnění s využitím bohatého citování literatury (uvádí 114 citací!). Dále zde zmiňuje přehled analytických metod, které jsou využívány pro diagnostiku Alzheimerovy choroby. Tato část je napsaná čtivou formou a s nadhledem, což dokazuje, že studentka této problematice věnovala hodně času. Velmi se mi líbila závěrečná shrnutí uvedená na konci některých kapitol (např. v kapitole 2.4.3.). Na druhou stranu by teoretická část mohla být doplněna charakteristikou SiMAG/PGL a SiMAG-IDA magnetických mikročástic (jejich popis včetně literárních odkazů je uveden až v experimentální části) a dále odstavcem o hmotnostní spektrometrii s uvedením principu hmotnostního spektrometru MALDI-TOF.

V experimentální části autorka uvádí pečlivě vypracované metodiky, které používala pro imobilizaci protilátek a fosforylace nízkomolekulárních substrátů volnými a imobilizovanými

kinázami či k prefosforylaci Tau proteinu. K ověřování účinnosti vazeb a analýzám frakcí pak využila elektroforetické a hmotnostně-spektrometrické metody.

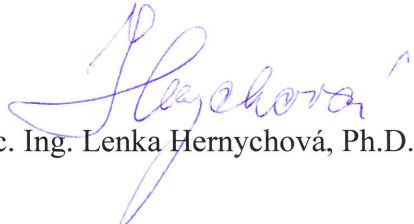
V části výsledky a diskuze je pozornost věnována imobilizacím protilátek na mikročástice SiMAG/PGL a SiMAG-IDA. Cílem bylo hledání optimálních podmínek účinné vazby protilátek na částice a funkčnost nosiče, které pak byly ověřovány pomocí SDS-PAGE. V rámci této práce byly získány nové výsledky, kdy byly úspěšně navázány monoklonální protilátky anti-A $\beta$  a anti-Tau, které pak byly využity k izolaci specifických antigenů. Tyto poznatky budou využity pro konstrukci miniaturizovaného diagnostického systému pro záchyt markerů Alzheimerovy choroby. V další části této práce byla ověřována aktivita kináz GSK-3, GSK-3 $\beta$  a MAP imobilizovaných na výše uvedené nosiče, které měly za úkol hyperfosforylovat Tau protein. Studentka přehledně popisuje jednotlivé získané výsledky, které dokládá na obrázcích a v tabulkách. V některých případech tato práce přináší specifika, např. vybrané experimenty byly provedeny pouze jednou, vzhledem k použitým protilátkám, které jsou velmi drahé (anti-A $\beta$  protilátky, str. 87). Při pozorném čtení se v textu ojediněle vyskytnou nejasnosti, např. u obrázku č. 17, str. 78 není vysvětlena zkratka OS, dále není metodicky popsána disociace molekul IgG, ve zkratkách nejsou uvedeny matrice používané pro hmotnostní spektrometrii MALDI (DHB a CHCA). Tyto drobné nedostatky však nesnižují kvalitu práce

Diplomová práce obsahuje 125 citací včetně odkazů na webové stránky. U všech typů citací jsou dodrženy citační normy. Rozsah práce je 138 stran, v textu je uvedeno 10 tabulek a 66 obrázků. Práce je napsaná stylisticky dobře a čtivě, v textu se vyskytuje minimum překlepů. Chtěla bych však upozornit na některá slova či spojení, která by zasloužila opravu: str. 13 „caspázy“ (kaspázy), str. 15 a 16 „senilní plaka“ (senilní plaky), str. 27 „maturace senilních plak“ (senilních plaků), str. 17 a 31 „animální modely“ (anglikanismus – zvířecí modely), str. 76 „ani 1 ze zvolených postupů“ (lépe je číslovku uvést slovně – ani jeden ...).

Dovolila bych si položit jednu otázku. V teoretické části mě zaujala zmínka o AFM mikroskopii (mikroskopie atomárních sil), kterou uvádíte v souvislosti s detekcí vzniku A $\beta$ <sub>42</sub> agregátů (str. 29). Mohla byste krátce říci více o této metodě?

**Závěrečné hodnocení:** Bc. Marie Vajrychová předložila velmi dobře a čtivě napsanou práci, která přesahuje požadavky standardně kladené na diplomovou práci. Všechny **zadané cíle byly splněny** a navíc se jí podařilo zpracovat přehledný literární úvod týkající se diagnostiky Alzheimerovy choroby, získat a diskutovat originální výsledky a ukázat další postupy experimentů. Z výše uvedených důvodů hodnotím diplomovou práci známkou **výborně**.

V Hradci Králové dne 24.5. 2011

  
doc. Ing. Lenka Hernychová, Ph.D.