



Posudek oponenta diplomové práce

Vyhotovila: Mgr. Marcela Slováková, Ph.D.
Autor práce: Bc. Aneta Kovářová
Název diplomové práce: Enzymem funkcionalizované nanočástice jako značky protilátek v imunosenzorech
Vedoucí práce: RNDr. Lucie Korecká, Ph.D.
Konzultant práce: Mgr. Michaela Čadková

Diplomová práce Bc. Anety Kovářové se zabývá tématem přípravy konjugátu, tj. sekundárních protilátek značených nanočásticemi s křenovou peroxidázou (HRP) či alkalickou fosfatázou (ALP) pro zvýšení citlivosti elektrochemické detekce proteinů. Metodika je součástí projektu pro vývoj elektrochemického imunosenzoru pro diagnostiku maligních onemocnění řešeného na KBBV a KACh Fakulty chemicko-technologické.

Text diplomové práce je standardně členěn do kapitol - úvod, teoretická část, experimentální část, výsledky a diskuse s definovaným cílem a závěr. V teoretické části se autorka nejprve věnuje molekulárním charakteristikám a mechanismům přeměny substrátů oběma používanými enzymy – HRP a ALP. Dalším tématem jsou elektrochemické biosenzory, imunosenzory a použití nanočástic (NPs) v biosenzorech. Text je vhodně doplněn obrázky ve velmi dobré kvalitě. V experimentální části jsou uvedeny všechny přípravné kroky pro přípravu konjugátu včetně ověření funkčnosti.

Cílem diplomové práce byl vývoj a optimalizace metodiky pro přípravu konjugátu pro ELISA metodu a ověření jeho funkčnosti pomocí systému anti-ApoE a ApoE jako antigenu. Ve výsledkové části jsou popsány a diskutovány dosažené výsledky. V textu se studentka věnuje dvěma částem - přípravě konjugátu tvořeného HRP anebo ALP s kontrolou mezikroků. Použití prvního enzymu nevedlo k reprodukovatelným výsledkům. Druhý enzym vykazoval v systému imunosenzoru vyšší citlivost.

Cíle diplomové práce byly splněny. Studentka pracovala na zajímavém biotechnologickém tématu, ve kterém se bude na pracovišti jistě dále pokračovat. Přínosem diplomové práce je využití spolupráce s vědeckými skupinami (Ústav makromolekulární chemie AV ČR). Diplomová práce patří k obsažnějším (107 stran). Z formálního a jazykového hlediska se studentka nevyvarovala občasným stylistickým chybám, v práci je minimum překlepů. 121 citací je čerpáno především ze zahraničních zdrojů, s výjimkou starších citací izolací a charakteristik enzymů ne starší 12 let. Forma citací není zcela jednotná.

K předložené diplomové práci mám následující **připomínky a dotazy**:

- Jako nevhodné je v textu vědecké práce použití pojmů: „z článku“, „autoři publikovali článek“ (s. 21, 24, 42). Vhodnějším je nahrazení např. „v práci, ve studii autorů (ze s. 36).
- Nedoporučuji zkracování slova „reakce“ na „rce“ a dále používání laboratorní řeči v textech „bralo se stejné množství částic“ (s. 72).

Dotazy:

1. Čím si vysvětlujete rozdíly v citlivosti detekce a její linearitě u anti-ApoE IgG^{ALP-NPs}? Z obrázků není zřejmé, zda se lišil absolutní limit detekce u obou srovnávaných systémů s nebo bez použití NPs v konjugátu?
2. Jaký význam měla mezoporozita u používaných nanočástic? Vysvětlete, jak se mění velikost povrchu u částic. Shodovaly se v některém parametru používané NPs, např. v porositě, v chemickém složení?
3. Jakou odhadujete stabilitu imobilizovaných enzymů v konjugátu? Bude sledování stability enzymů a celého systému další náplní práce?

Závěrem konstatuji, že práce splňuje zadání, obsahuje všechny náležitosti a po stránce obsahové i formální má velmi dobrou úroveň. Po zodpovězení dotazů a vyjádření se k připomínkám ji **doporučuji** k obhajobě. Hodnotím známkou **výborně**.



Mgr. Marcela Slovák, Ph.D.
oponent práce