



Posudek diplomové práce studentky Bc. Barbory Ospálkové

Tématem diplomové práce bylo otestovat 2 generace prototypu nového blotovacího zařízení pro rychlé a laboratorně méně náročné zhodnocení kvality specifických protilátek. Cílem práce bylo si nejprve osvojit metodiku Western blotu a Dot blotu v klasickém uspořádání za použití modelového biospecifického páru antigenu s protilátkou. Poté měla studentka ověřit, zda lze použít nově vyvíjené zařízení k ověření specifity a afinity protilátek a získat tak kvalitativně srovnatelné informace o testovaných protilátkách.

Teoretická část (celkem 93 prací) obsahuje přehled dnes nejčastěji používaných metod pro charakterizaci specifických protilátek, instrumentálních ale i metod klasických jako jsou např. ELISA a mnohé z variant blottových technik. Tato část je doplněna perfektním shrnutím výhod a nevýhod, které plynou z použití polyklonálních resp. monoklonálních protilátek v imunoanalytických metodách a proč je důležité kvalitu protilátek testovat. Podrobně popsané metody používané běžně v praxi a ve výzkumu se poté staly základem pro práci experimentální.

Při řešení jednotlivých kroků experimentální části a volbě metod vycházela diplomantka z přístrojového vybavení laboratoře, kde se zaměřila na dnes již klasickou metodu ELISA a Western blot s imunochemickou detekcí. Pro druhou část experimentů používá diplomantka nově navržený prototyp zařízení označovaného jako μ DotBlot. V kapitole č. 4 je uvedeno a vhodně komentováno velké množství výsledků. Z přehledu jasně vyplývá, že studentka zvládla mnoho náročných experimentů a zvládla i vhodně diskutovat dosažené výsledky a to v kontextu vývoje nového zařízení.

K práci mám několik připomínek a podnětů k diskuzi.

- 1) Špatně zvolená terminologie pro tzv. indikátory používané v imunoanalýze – termín „značené činidlo“ je nevhodný a nepřesný (str. 13 a další).
- 2) Text kapitoly *Závěr* považuji za zbytečně dlouhý. Některé odstavce v závěru svým obsahem patří spíše do kapitoly diskuze než do závěru. Celkový výsledek práce a zhodnocení přínosu nového prototypu ve srovnání s klasickými postupy se v diskutovaných výsledcích téměř ztrácí.
- 3) Proč je v práci tak špatná kvalita všech obrázků? Grafy a schémata shrnující vlastní výsledky vypadají jako nekvalitní kopie převzatých obrázků.
- 4) Proč se afinita (avidita) protilátek testovala pouze do molarity 1,5, když z grafů obrázků č. 24, 30, 32 jasně vyplývá, že je to hraniční molarita pro dosažení 50 % poklesu intenzity signálu. Byl k tomu nějaký důvod?
- 5) U všech grafů experimentální části chybí na ose x (koncentrace Ag, NH₄SCN, a další) jednotka, v jaké je tato veličina vyjádřena.

- 6) U většiny experimentů byl počet opakování 3x až 4x, proč získané hodnoty vyjádřené graficky neobsahují informaci o směrodatné odchylce, byla data statisticky vyhodnocena?
- 7) Proč v celé práci chybí schéma, obrázek nebo fotografie použitých prototypů? Byl k tomu nějaký důvod?
- 8) Formulace odkazu na zdroj obrázků je velice neobvyklá „Upraveno dle zdroj obrázků [x]“.

Dotaz na diplomantku: V jakých oblastech výzkumu či klinické praxe by mohlo být nově vyvíjené zařízení s výhodou využíváno? Může toto zařízení nahradit stávající techniky popsané v teoretické části?

Na závěr lze konstatovat, že všechny dílčí úkoly zadání diplomové práce byly splněny. Chci ocenit velice pečlivé zpracování textu diplomové práce s přesnou a přehlednou prezentací výsledků. Studentka splnila všechny zadané úkoly a práci hodnotím známkou

Výborně (A)

V Pardubicích 22. 5. 2018

prof. RNDr. Zuzana Bílková, Ph. D.
oponent

