

Oponentský posudek disertační práce

Mgr. Aneta Kovářová

MINIATURIZOVANÉ ELEKTROCHEMICKÉ IMUNOSENSORY PRO DETEKCI A KVANTIFIKACI PROTEINOVÝCH BIOMARKERŮ

Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická

Předkládaná disertační práce je příspěvkem k vysoce aktuální problematice vývoje miniaturizovaných biosenzorů a rozvíjí možnosti využití elektrochemické detekce v kombinaci s vysoce selektivním rozpoznáváním analytů. Ty jsou zastoupeny klinicky významnými biomarkery nebo patogeny bakteriálního původu ve vzorcích potravin. Práce je koncipována jako souhrn publikací Mgr. Anety Kovářové, uvozený rozsáhlým literárním přehledem ke studované problematice. Práce je doplněna autoreferátem shrnujícím základní teze. Publikace dokumentující vlastní vědeckou práci autorky jsou vždy uvozeny velmi stručným popisem obsahu a přínosu dosažených výsledků v rozsahu abstraktu okomentovaný podílem autorky na publikačním výstupu. Jedná se celkem o 4 publikace v recenzovaných impaktovaných časopisech a jednu publikaci v recenzovaném sborníku vědeckých prací (Scientific Papers of the University of Pardubice, Series A§. Na těchto publikacích není Mgr. Kovářová ani první ani korespondenční autorkou. Práce dále obsahuje jeden rukopis připravený k odeslání do nejmenovaného periodika, kde je první autorkou.

Poznámky, komentáře, otázky

ÚVOD:

- Úvod práce na 43 stranách shrnuje princip funkce biosenzoru a jejich rozdělení a dále se v dostatečné míře věnuje elektrochemickým biosenzorům z hlediska jejich konstrukce a aplikací včetně použití v místě péče o pacienta. Úvod je čtivě sepsán, nicméně mohl by reflektovat i vlastní práce autorky. Dále by bylo vhodné citovat více přehledových článků či kapitol v knihách/knih. Často jsou zmiňovány pouze jednotlivé studie na danou tematiku, často značně historické (90. léta) (např. str. 18, 1. odstavec – pět citací k rozdělení biosenzorů podle fyzikálně-chemického převodníku; str. 20, 2. odstavec – 5 citací k rozdělení elektrochemických sensorů; a jinde).
- Mohla by autorka uvést příklady novějších review či knih zabývajících se elektrochemickými biosensory?
-

EXPERIMENTÁLNÍ A VÝSLEDKOVÁ ČÁST:

- Výsledkovou část tvoří tematicky poměrně rozdílné jednotlivé publikace opatřené krátkým úvodem v rozsahu delšího abstraktu. Tyto publikace reflektují definované cíle práce a jejich výsledky jsou shrnuty v krátkém stránkovém souhrnu, který ovšem na jednotlivé publikace konkrétně neodkazuje, což ztěžuje orientaci v textu. Celkově tak působí práce poněkud

nesourodě. Proto bych považovala za vhodné uvést obsáhlejší shrnutí s odkazem na jednotlivé publikace, které by mělo lépe ukázat jejich vzájemné tématické propojení.

- Publikace prošly náročným recenzním řízením do určité míry zaručujícím jejich kvalitu, přesto si dovoluji položit několik otázek:

Publikace I (ACS Applied Materials and Interfaces, 2015):

- Z obr. 1 ani textu mi není zcela jasná funkce thioninu jako redoxního mediátoru. Pokud správně rozumím představenému principu, je ampérometricky měřena oxidace substrátu, tj. peroxidu vodíku, respektive jeho úbytek v přítomnosti PCMMA částic modifikovaných samotnou peroxidázou a peroxidázou v přítomnosti thioninu. Co je tedy příčinou zvýšení signálu v čase nula ve druhém případě (obr. 8 vložený graf), když v roztoku je na začátku stejné množství peroxidu vodíku?
- Byl již navržený imunosenzor testován na reálném systému?

Publikace II (Monatshefte für Chemie – Chemical Monthly, 2017): V práci je dokumentována možnost minimálně 5ti násobného opakovaného použití tištěných uhlíkových elektrod pro detekci CdSe/ZnS kvantových teček. K čemu se vztahuje na obr. 3 uvedená nejistota („three repetitions“ v popisku obr.) a k čemu osa x („number of repetitions“). Bylo by účelné provést více než 5 opakovaných měření? Lze předpokládat obdobnou stabilitu odezvy elektrody i pokud budou kvantové tečky použity v reálném systému pro značení protilátky?

Publikace III (Talanta, 2018):

- V textu je v některých případech rozpor mezi údaji v abstraktu, tabulce 1 a textu na str. 114 vztahujícím se k lineárnímu rozsahu a limitám detekce/stanovitelnosti pro oba sensory (Hg-SPCE pouze v případě protilátek připravených v laboratoři). Můžete uvést dosažené lineární rozsahy, uvést jak přesně byly počítány limity detekce a dále diskutovat reálnou možnost detekce pro uvedený limit detekce? Nejnižší měřené koncentrace jsou zřejmě vždy několikrát vyšší, než uvedený LOD a jsou mimo uvedený lineární rozsah.
- Šlo by použít ve vsádkovém systému i uhlíkových tištěných elektrod bez modifikace povrchu kovovým filmem, tak jako v Publikaci II? A naopak, šly by SPCE modifikované kovovým filmem použít v průtokovém uspořádání, nebo je předpokládána nižší stabilita filmu v průtoku?

Obecné dotazy

- V publikacích je použito několik typů tištěných elektrod (platinové, uhlíkové). Podle čeho byly vybírány?

FORMÁLNÍ A STYLISTICKÉ PŘIPOMÍNKY

Po formální stránce je práce zpracována velmi kvalitně s malým výskytem překlepů a stylistických nedostatků.

- U seznamu literatury bych doporučila uvádět všechny autory, ne pouze první tři, pro snadnější přiřazení publikací jednotlivým skupinám – korespondenční autor bývá spíše uváděn jako poslední.
- Latinské názvy organizmů se píší kurzívou (chybně převážně v seznamu literatury).
- Publikace II (Monatshefte für Chemie – Chemical Monthly 2017) a publikace III (Talanta 2018) mají uveden jiný název v souhrnu (str. 69, respektive 76), než je skutečný název vyšlé publikace.

Shrnutí:

Podaná práce představuje podnětný příspěvek k problematice vývoje elektrochemických imunosenzorů s využitím tištěných elektrod. Dosavadní počet citací uvedených publikací je 27, s potenciálem na značný nárůst zejména u publikace I (ACS Applied Materials and Interfaces, zveřejněna 2015, dosud 10 citací) a publikace III, Talanta, uveřejněna 2018, dosud 13 citací). Velké množství publikovaných výsledků svědčí o zapojení autorky do řešení více vědeckých projektů a o její schopnosti spolupráce. Otázkou zůstává, zda neměla mít samotná disertační práce tématicky užší zaměření, aby se autorka mohla více věnovat vybranému tématu jak v úvodu práce, tak ve výsledkové části a lépe dokumentovat postup experimentálních prací a jejich propojení. Dále je třeba uvést, že práce neobsahuje prvoautorskou publikaci, vyšlou či přijatou do tisku, součástí práce je však rukopis prvoautorské práce připravený k odeslání.

Uchazečka svou doktorskou dizertační prací jednoznačně prokázala zvládnutí metodiky vědecké práce a schopnost samostatným způsobem a tvořivě vědecky pracovat. Práce splňuje požadavky kladené na disertační práce v oboru Analytická chemie, a proto ji doporučuji jako podklad k obhajobě. Po jejím úspěšném obhájení navrhuji udělit Mgr. Anetě Kovářové vědecko-akademický titul Ph.D.

doc. RNDr. Karolína Schwarzová, Ph.D.

Katedra analytické chemie, UK PŘF

V Praze dne 20. 09. 2020