

Název rigorózní práce **Studium vlivu množství přidaného chelatačního činidla na výsledek konjugace monoklonální protilátky**

Uchazeč **Mgr. Adriana Janečková**

Oponent **PharmDr. Jiří Janoušek, Ph.D.**

Posudek oponenta rigorózní práce

Téma řešené v předložené rigorózní práci je vědecky přínosné. Cíl práce se podařilo zcela splnit. Práce obsahuje minimum překlepů a gramatických chyb.

Rozsah a zpracování teoretické části ukazuje na dobrou orientaci autorky ve zkoumané problematice. Přesto bych měl k obsahu této části několik připomínek. Podkapitola 3.3.1 mi přijde vzhledem k zaměření této práce nadbytečná; podkapitoly 3.3.4 a 3.3.5 pojednávající o růstových faktorech, jejich receptorech a monoklonálních protilátkách bych uvedl jako kapitoly vyšší úrovně, jelikož se v nich přímo nepíše o využití těchto látek v radioimunoterapii; výčet radionuklidů z kapitoly 3.4 mohl být uveden už v kapitole 3.2 "Radionuklidy a chelatační činidla". Dále pak některé části textu působí jako doslovný překlad z anglického originálu. Byť je text citován, chtělo by ho to správně "počeštit". Obzvláště patrný je tento problém v překladech odborné angličtiny: "Ačkoliv, konstanty termodynamické stability..." "Ovšem, hodnocení kinetické inertnosti...".

V experimentální části chybí informace o metodě/přístroji, který umožnil konjugaci monoklonální protilátky s chelatačním činidlem při 37°C. V kapitole 5.4.3 se mluví o konjugaci s chelátorem DTPA, ale úplný chemický název, molekulová hmotnost i Obr. 6 uvádějí modernější derivát CHX-A"-DTPA. S čím se tedy doopravdy pracovalo? V kapitole 5.4.4 je pak uvedena koncentrace protilátky použitá pro konjugaci jako 200ug. To je ale informace pouze o hmotnosti protilátky, ne o koncentraci.

Ve výsledkové části mě zaráží nízká hodnota spolehlivosti kalibračních křivek chelatačních činidel. Hlavně $R=0,7776$ pro DOTA je extrémně nízká hodnota.

V diskuzi si autorka klade správné otázky stran vlivu derivatizace monoklonálních protilátek na jejich afinitu k antigenu. Chybí mi však porovnání dosažených výsledků s literaturou.

Připomínky k formální stránce práce: citace se píšou na konci věty před tečkou, nikoliv za ní; některé zkratky nejsou v textu zavedeny při prvním výskytu, případně se později v textu objevují v plném znění nebo jsou naopak zavedeny opakovaně; Ras/Raf na Obr. 3 (str. 41) nejsou krysí sarkom/fibrosarkom, ale jejich název je od nich odvozen (chyba opsaná z citovaného článku); na Tab. 1 chybí v textu odkaz; v popisu Tab. 1 a Obr. 2 (str. 18-19) se střídají velikosti fontu; název metody/činidla Arsenazo III se občas objevuje jako Arzenaso III, správně je první varianta; octan sodný se v seznamu chemikálií vyskytuje 2x

Dotazy:

- 1) Proč nebyl použit BCA Protein Assay kit, který umožňuje stanovení konc. v rozsahu 20-2000ug/ml?
- 2) Může samotná struktura mAb interagovat se stanovením počtu navázaných chelátorů? Pokud ano, jak byl tento problém během experimentální práce vyřešen?
- 3) Jak si vysvětlujete rozdíly v počtu navázaných chelátorů na mAb, když se všechny tři vázaly pomocí stejné funkční skupiny na stejná místa v molekule mAb?
- 4) Na základě jakého kritéria byl označen konjugační poměr jako optimální? Pro DOTA je výsledný poměr chelátor:mAb 5, pro DTPA cca 19. To je poměrně velký rozdíl.

Práce splňuje požadavky kladené na tento druh práce a doporučuji ji k obhajobě