

**UNIVERZITA KARLOVA  
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ**

Katedra biologických a lékařských věd

Studijní program: Bioanalytická LDZ

**Posudek oponenta diplomové práce**

Rok obhajoby: 2022

Autor/ka práce: **Bc. Eliška Kejzlarová**

Vedoucí práce: Mgr. Zuzana Svobodová Ph.D.

Konzultant/ka: M.Sc. Ivone Cristina Igreja e Sá

Oponent/ka: Mgr. Katarína Tripská

Název práce: **Hodnocení kvality protilátek určených pro detekci endoglinu v játrech**

Rozsah práce: 83 stran, 27 obrázků, 12 tabulek, 65 citací

**Hodnocení práce:**

- |  |             |
|--|-------------|
| a) Odborná úroveň a zpracování teoretické části:               | velmi dobrá |
| b) Náročnost použitých metod:                                  | výborná     |
| c) Zpracování metodické části (přehlednost, srozumitelnost):   | výborné     |
| d) Kvalita získaných experimentálních dat:                     | výborná     |
| e) Zpracování výsledků (přehlednost, srozumitelnost):          | výborné     |
| f) Hodnocení výsledků včetně statistické analýzy:              | výborné     |
| g) Myšlenková úroveň a rozsah diskuse výsledků:                | výborná     |
| h) Srozumitelnost, výstižnost a adekvátnost závěrů:            | výborná     |
| i) Splnění cílů práce:   | výborné     |
| j) Množství a aktuálnost literárních odkazů:                   | velmi dobré |
| k) Jazyková úroveň (stylistická a gramatická úroveň):          | výborná     |
| l) Formální úroveň práce (členění textu, grafické zpracování): | výborná     |

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Autorka zvládla spracovanie náročnej témy veľmi dobre. Predkladaná diplomová práca je prehľadná, zrozumiteľná a dobre štrukturovaná, s minimálnym množstvom gramatických chýb. Je doplnená veľkým množstvom obrázkov a tabuliek. Výsledky sú prezentované pomocou prehľadných grafov a závery sú jasným a zrozumiteľným zhrnutím celej práce.

Práci by som však vytkla väčšie množstvo nepresnosti hlavne v teoretickej časti. Endoglin nemá povrchový znak CD105, ale CD105 je synonymom pre endoglin (str.8). Skratka HCC nie je vysvetlená pri prvom použití (str. 18). MMP-1 neštiepi endoglin - autorka pravdepodobne myslela MT1-MMP, čo je alias pre MMP-14. Skratka ALK je vysvetlená jako "anaplastická lymfómová kináza", zatiaľ čo v kontexte TGF-beta nadrodiny sa jedná o "activin receptor-like kinase". Na str. 26 chýba citácia za odsekem a na rovnakej strane autorka spomína štúdiu od Stefoni a kol., ku ktorej ale nie je žiadna citácia. Taktiež autorka tvrdí, že sEng pôsobí ako "lapač" TGF-beta ligandu, čo už bolo vyvrátené. Ďalej pri popise vzoriek použitých na WB, autorka nesprávne uvádza "3 x aorta s Apolipoproteínom E", keďže vzorky sú z myši deficientných na ApoE (ApoE<sup>-/-</sup>). U obr. č. 18 nesedí popis v texte (konkrétne použité zriedenia v jednotlivých riadkoch) s tým, čo je znázornené na obrázku.

Na druhej strane je praktická časť spracovaná naozaj kvalitne, s veľkým množstvom dát usporiadaných v prehľadných grafoch a je vidno, že autorka si dala s prácou veľkú námahu. Táto práca je tiež veľkým prínosom pre katedru a preto (aj navzdory väčšiemu množstvu nepresností popísaných vyššie) hodnotím prácu na výbornu.

Dotazy a pripomínky:

1. Aká dlhá bola inkubácia primárnej protilátky u wester blotu? Na str. 46 popisujete, že druhý deň prebiehala elektroforéza, transfer a inkubácia s primárnymi protilátkami, zatiaľ čo na str. 49 uvádzate, že inkubácia prim. protilátky s membránou prebiehala po dobu 1 hod.
2. Máte nejaký nápad, ako by ste vysvetlili, že pri testovaní afinity protilátka od firmy Abcam nedávala žiadny signál ani v jamke bez chaotropného činidla? Skúšali ste na jednej membráne v jednom riadku inkubovať primárnu protilátku od Abcam a komplementárnu sekundárnu protilátku (na overenie že endoglín, protilátky a detekcia fungujú správne) a v ďalšom riadku použiť tú istú protilátku ale s chaotropným činidlom?
3. Prečo sa domnievate, že protilátka sc-19793 sa nešpecificky viaže na BSA? U experimentov pomocou affiblotu sa nepreukázala závislosť intenzity na koncentrácií a u experimentov pomocou WB, v jamke s BSA nie je žiadny signál. Navyše, ak by sa protilátka viazala na BSA, tak band (u WB) by bol v oblasti okolo 66kDa. Nie je skôr možné, že protilátka reaguje s iným neznámym proteínom s molekulovou hmotnosťou 130 kDa?

**hodnocení, práce je: výborná**

**k obhajobě: doporučuji**

V Hradci Králové

31. srpna 2022

podpis oponenta/ky