

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. Lucie Křížová**

Vedoucí práce: Mgr. Zuzana Svobodová, Ph.D.

Konzultant/ka: Dr. Burkhard Horstkotte

Oponent/ka: Mgr. Denisa Smělá

Název práce: **Automatizovaná příprava anti-COVID magnetického imunosorbentu**

Rozsah práce: 96 stran, 25 obrázků, 6 tabulek, 61 citací

Hodnocení práce:

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

Doporučuji diplomovou práci k uznání jako práci rigorózní

Případné poznámky k hodnocení:

Studentka Bc. Lucie Křížová se věnovala automatizaci protokolu imobilizace protilátek na magnetické částice. Převedením do automatizovaného systému s využitím Lab-In-Syringe studentka dokázala zkrátit čas potřebný pro přípravu imunosorbentu o dvě hodiny a zároveň zvýšit reprodukovatelnost přípravy, což je významným přínosem a v souladu se současnými trendy v této oblasti. I přes připomínky, které uváním níže hodnotím práci jako velmi zdařilou a oceňuji potenciál pro praktické využití tohoto protokolu s využitím LIS metody. Celkově lze říci, že zadané cíle diplomové práce byly splněny.

Dotazy a připomínky:

- Diplomová práce je členěna obvyklým způsobem na teoretickou a experimentální část. Teoretická část obsahuje srozumitelný úvod do tématu v adekvátním rozsahu a je doplněna obrázky a tabulkami, které zvyšují přehlednost textu. Studentka čerpala převážně z aktuálních zahraničních publikací, rychlé orientaci ve zdrojích ale mírně zabraňuje způsob, kterým studentka citace uvádí v textu. Lepší variantou pro čtenáře by bylo uvádět číslo citace vždy u příslušné informace, nikoliv jako seznam čísel na konci každého odstavce. Práce také

obsahuje poměrně velké množství překlepů, gramatických a typografických chyb a nejednotnou formální úpravu, což zhoršuje výslednou kvalitu textu.

- Text práce obsahuje na několika místech neobratné formulace, vzniklé pravděpodobně nepřesným překladem z anglického jazyka. Ve většině případů to nebrání porozumění textu, ovšem v několika případech, z nichž některé uvádím, jsou uvedené informace zavádějící. Příkladem je nepřesné používání termínu gen v těchto větách: „Ze čtyř strukturních genů sdílí SARS-CoV-2 více než 90 % aminokyselin se SARS- CoV.“ a „Výjimku tvoří gen pro S protein, který je delší než u SARS-CoV. Místo 1 255 aminokyselin jich má 1273.“ Termíny gen a protein nelze zaměňovat. Tyto formulace naznačují, že geny se skládají z aminokyselin, což není pravda. Autorka se chybám a nepřesným formulacím nevyhnula ani v experimentální části. Příkladem je nadpis 5.9 – PCR technika je v českém jazyce označovaná jako polymerázová řetězová reakce, nikoliv řetězová.

- V kapitole 5.5 bych uvítala vložení pár vět vysvětlujících aktivaci karboxylových skupin. Proces této aktivace je schématicky znázorněn na Obrázku 9, ale v textu se popis chybí.

- Kapitola 5.9 s názvem PCR neobsahuje protokol pro PCR s konkrétními podmínkami a názvem použité soupravy. Obsahuje pouze popis experimentu testování účinnosti imunosorbentu na reálných vzorcích s následnou izolací virové RNA komerčním kitem.

- V textu jsou chybně uvedeny odkazy na Obrázek 7 (str. 31), 14 a 15 (str. 42). Na st. 46 se autorka odkazuje na kapitolu 4.6, která v textu neexistuje.

- V experimentální části jsou podrobně popsány veškeré provedené optimalizace a jejich výsledky. Způsob prezentace výsledků experimentů bohužel není ideální. V textu chybí odkazy na jednotlivé grafy a obrázky. Obrázek 16, obsahující výsledky experimentů, v textu není vůbec zmíněn ani popsán. Obrázek 17 je v textu uveden špatně, u grafu chybí popis osy y. Odkaz v textu pro Obrázek 18 je uveden chybně a další obrázky v textu nejsou zmíněny vůbec. U vložených přehledů naprogramovaných kroků pro imobilizaci protilátek pomocí LIS chybí popis i odkaz v textu. V následujícím textu chybí odkazy na obrázky, až do Obrázku 24, který uveden je. Obrázek 25 je už ovšem opět uveden chybně.

Nedostatky, které se u této práce týkají převážně formálního zpracování a práce s textem, bohužel zhoršují celkovou kvalitu práce, která je jinak obsahově velmi zajímavá a poměrně rozsáhlá. Ráda bych vyzdvihla pečlivý popis použitých metod a technik; oceňuji také vložení příloh s dodatečnými detaily, které dále přibližují komplexní proces automatizace, kterému se práce věnovala. Studentku bych chtěla požádat o zodpovězení několika otázek:

1. Na magnetický nosič jsou v rámci ověření fungování optimalizované metody LIS navazovány protilátky proti SARS-CoV-2. Proč autorka zvolila název imunosorbentu podle onemocnění „Anti-COVID“ místo označení viru „Anti-SARS-CoV-19“, který by připravený imunosorbent popisoval přesněji?

2. Práce se věnuje izolaci SARS-CoV-2 pomocí magnetického imunosorbentu. Jaké jsou další možnosti metod pro detekci SARS-CoV-2? Jaké má použití magnetického imunosorbentu výhody a limity v porovnání s ostatními dostupnými systémy?

3. Jaké maximální množství imunosorbentu je možné připravit v rámci jedné šarže pomocí metody LIS? Jak dlouho je možné takto připravený imunosorbent uchovávat?

4. Autorka na str. 31 zmiňuje mezi výhodami LIS možnost vyšší rychlosti otáčení magnetického míchadla, platí toto i v případě využití LIS pro přípravu imunosorbentu? Vede zvýšení rychlosti míchání k vyšší kvalitě výsledného produktu?

hodnocení, práce je: velmi dobrá

k obhajobě: doporučuji

V Pardubicích

2. září 2022

podpis oponenta/ky