

Posudek oponenta k diplomové práci Kateřiny Slapničkové „ Značení monoklonální protilátky radionuklidem 99m-Tc a ověřování její vazebnosti na antigen TU-20“

Kateřina Slapničková vypracovala diplomovou práci na téma „ Značení monoklonální protilátky radionuklidem 99m-Tc a ověřování její vazebnosti na antigen TU-20“. Téma je vysoce aktuální a má i značný praktický význam neboť radionuklidová diagnostika hraje významnou roli v současných moderních medicínských oborech. Diplomová práce je v rozsahu 77 stran textu, ca. 30 stran zaujímá teoretický úvod, dalších 30 stran je věnováno experimentální části, zbytek potom diskusi a literárním odkazům. Práce je doplněna zdařile vyvedeným českým a anglickým abstraktem.

Úvodní část popisuje skutečnosti, které jsou v přímé souvislosti s řešeným úkolem a dávají tak čtenáři ucelenou představu o problematice přípravy a využití cílové látky včetně kritických aspektů. Část je potom věnována rozvaze přípravy cílové sloučeniny včetně diskuse možných postupů a vyhodnocovacích či analytických metod. Musím konstatovat, že tato část je velmi zdařilá, autorka se úspěšně pokusila popsat i složitou problematiku imunochemické diagnostiky. Vlastní experimentální část je zpracována velmi podrobně a dokumentována řadou obrázků a tabulek. Výsledky jsou racionálně diskutovány.

Práci je nutné považovat za kvalitní a velmi přínosnou, jedná se o ucelenou studii s výraznou vypovídací hodnotou. Nutné je ocenit také širokou škálu metodik i množství získaných výsledků.

V práci se vyskytuje minimum překlepů, graficky je vkusně a přehledně upravena. Z faktických nedostatků, které ovšem nijak nesnižují vlastní hodnotu práce bych si dovoлил uvést:

- v textu se občas vyskytují anglické názvy chemikálií, směs anglických a českých názvů nevypadá příliš dobře zvláště proto, že české ekvivalenty jsou zcela zřejmé a navíc jsou mnohdy v dalším textu české názvy použity (občas jsou i anglická slova ve schemech, která jsou evidentně kreslena např. str. 15, mikrotubuly jsem tam taky našel někdy s c)
- v obrázku na str. 15 bych pro Tc volil spíše iontovou formu
- v práci je krásná óda na papírovou chromatografii, nechci snižovat její význam, ale v současné době je řada chromatografických technik, které ji dokážou nahradit a jsou výrazně rychlejší
- str. 18 – po natrávení imunoglobulinu Papinem (obávám se že jde o papain, použití velkého písmena podtrhuje zábavnost tvrzení (při psaní posudku jsem ovšem pochopil jak daná věc vznikla – automatické opravy Wordu – takže jen poznámka, je třeba si na to dávat pozor)
- str. 25 - rovnice (1), použití obousměrné šipky je v daném smyslu nevhodné neboť se jedná o rovnováhu tvorby komplexu antigen-protilátka, kde by měla být dvojitá šipka, použitý symbol se používá pro charakterizaci mezomerních stavů.
- pravopis u kyseliny 5-aminosalicylové na str. 30 není úplně obvyklý
- str. 42 schema: vzorec nad druhou šipkou je chybně, předpokládám, že jde o di-terc-butyl-dikarbonát (Boc-anhydrid), t-butyl-oxy-karbonyl se standardně označuje Boc
- str. 50 - 51 - kapitoly nazvané spektrofotometrie jsou spíše stanovením koncentrace, takhle od toho každý čeká nějaký rozbor spekter
- str. 55 – popis obrázku, nejedná se o redukované technecium, ale komplex s protilátkou
- str. 65 – vyhnul bych se pojmu vazebnost, je to spíš biologický pojem, v chemii komplexů působí poněkud nezvykle, nicméně je to pochopitelné

Uvedené nedostatky rozhodně nesnižují faktickou kvalitu předložené práce.

K práci mám následující dotazy:

- 1) V práci jste zvolila jako variantu značení protilátky transchelatační reakci, je přídavek transchelatačního činidla nutný pro zdárný průběh reakce?

- 2) Na str. 42 je vzorec použitého derivátu hydrazinonikotinové kyseliny, který má reagovat s aminoskupinou lysinu v monoklonální protilátce. Jak si představujete strukturu výsledného produktu, jaká reakce probíhá?
- 3) Na str. 46 jsou výsledky separace produktu pro různé objemy separačního gelu (Sephadex) – jak vypadalo geometrické uspořádání experimentu (konstantní průměr nebo byly použity kolony různých rozměrů). Čím si myslíte, že je způsobeno lepší dělení v případě většího množství sorbentu? Bylo by možné použít pro čištění i jinou metodu – případně i založenou na gelové filtraci?
- 4) Na str. 60 jsou srovnány imunoreaktivity produktů při použití různých metod značení či čištění. V případě 1,2 a 3 je určitý pokles imunoreaktivity pouze v důsledku rozdílného množství gelu při chromatografickém čištění – jedná se skutečně o nějaký vliv, nebo je to v rámci chyby při stanovení imunoreaktivity?
- 5) Máte již nějaké výsledky týkající se biodistribuce vybraného cílového komplexu?

Závěrem je nutné konstatovat, že diplomová práce Kateřiny Slapničkové je dílem zahrnujícím v sobě velké množství jak experimentální, tak i teoretické práce. Diplomantka prokázala schopnost adekvátně prezentovat výsledky svých úvah i pokusů. Doporučuji tedy diplomovou práci k obhajobě.”

..



Doc. Ing. Stanislav Smrček, CSc.

Praha 16.5.2006